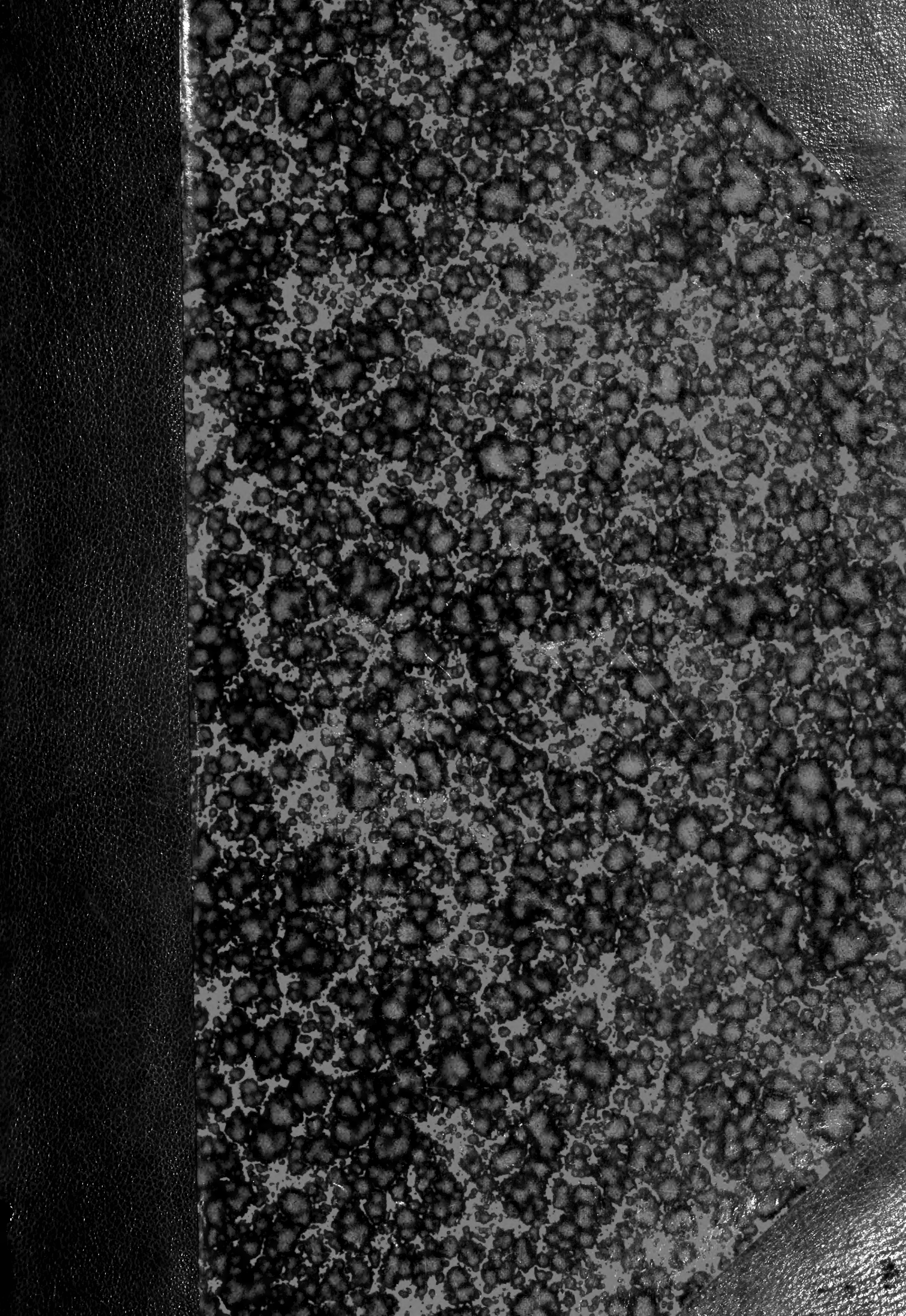
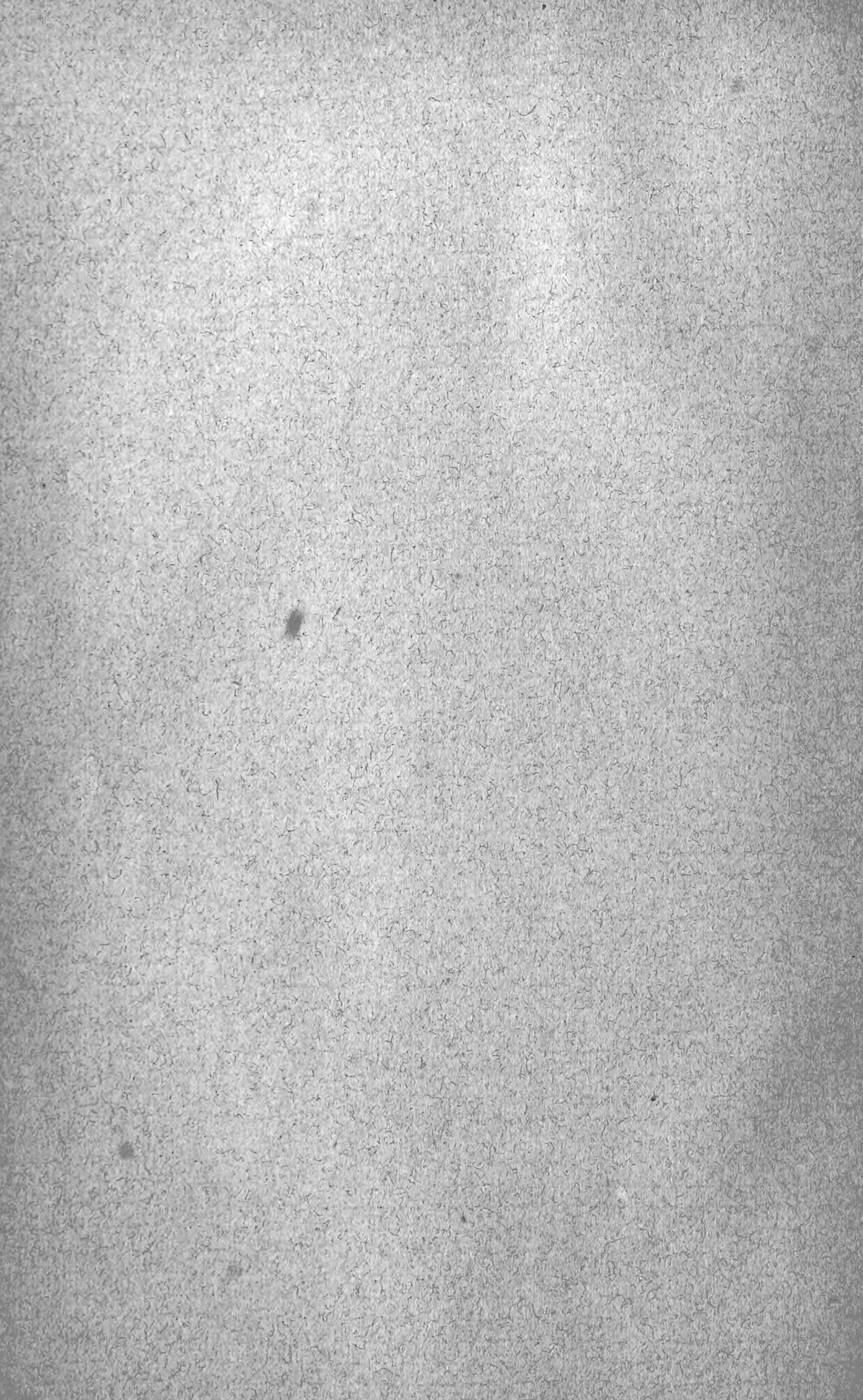
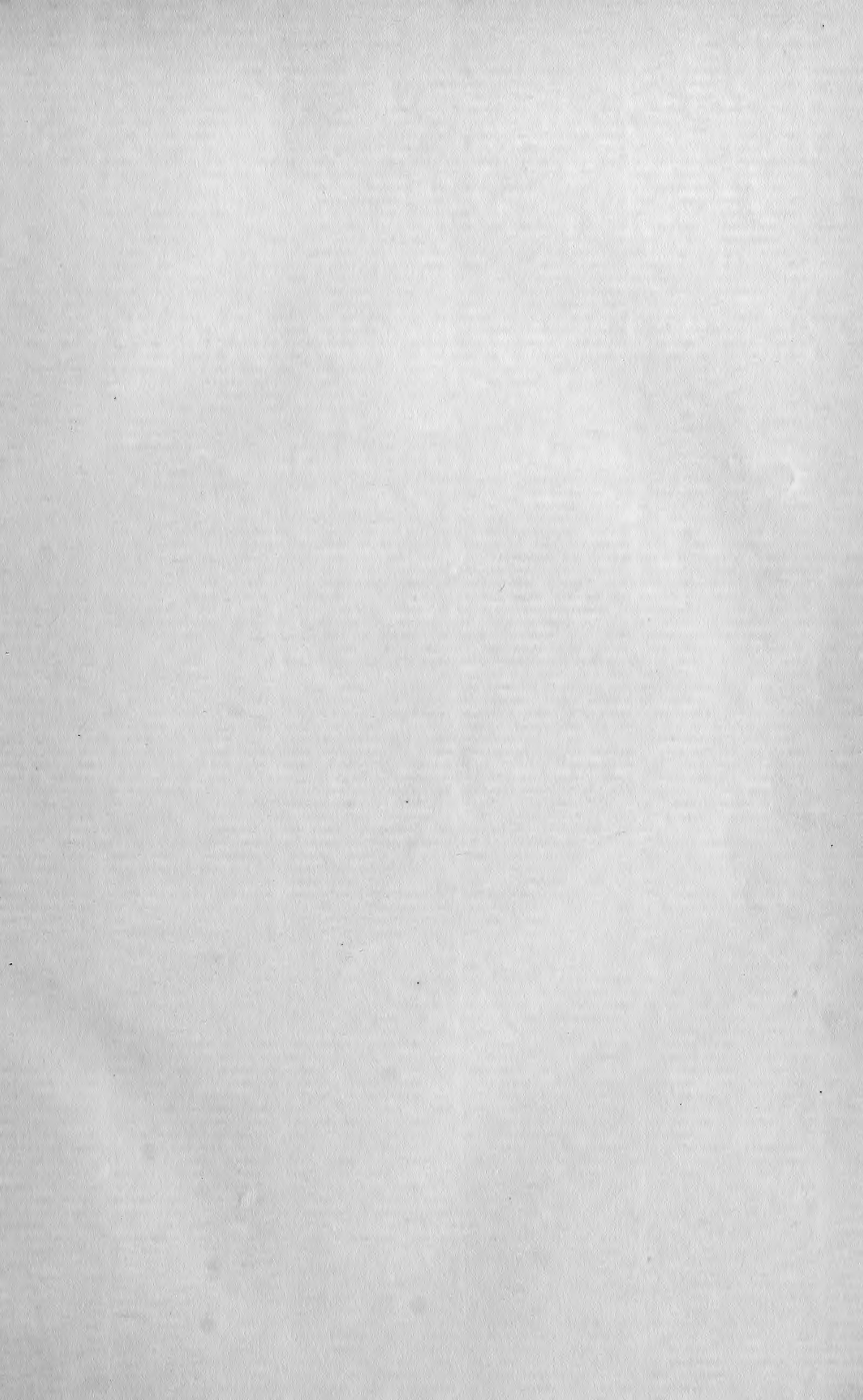












ARCHIV

für

Mikroskopische Anatomie

I. Abteilung

für vergleichende und experimentelle Histologie und Entwicklungsgeschichte

II. Abteilung

für Zeugungs- und Vererbungslehre

herausgegeben

von

O. Hertwig und **W. Waldeyer**

in Berlin

Einundachtzigster Band

II. Abteilung

Mit 10 Tafeln und 13 Textfiguren

BONN

Verlag von Friedrich Cohen

1913

Inhalt.

Abteilung II.

Erstes Heft. Ausgegeben am 22. Oktober 1912.

Drittes Heft. Ausgegeben am 25. Januar 1913.

Viertes Heft. Ausgegeben am 20. Februar 1913.

Aus dem biologischen Laboratorium der Universität Bonn.

Über die Geschlechtszellen des Menschen und der Säugetiere.

Von

A. Fuss.

Hierzu Tafel I und II und 5 Textfiguren.

Die Ansicht, dass die Träger der Vererbung, Ei- und Samenzelle, sich bereits in sehr früher Zeit der embryonalen Entwicklung von den übrigen, den somatischen Zellen sondern, ist zuerst von M. Nussbaum (18) bei Forellen- und Froschembryonen eingehend dargestellt und begründet worden.

Nussbaum nannte diese Zellen, solange sie auf den jüngsten Stadien des Embryos noch keine Differenzierung zu Ovium oder Spermium zeigen, Geschlechtszellen und setzte sie in Gegensatz zu den übrigen Zellen, welche den Körper des Individuums aufzubauen bestimmt sind und sich nicht zu Ei oder Samen umzubilden vermögen.

Auch für andere Wirbeltiere und die niederen Tiere ist die frühe Sonderung solcher Zellen in der Folge beschrieben worden, so vor allem von Balbiani (4) bei Chironomuslarven, dann von Allen (3), Beard (5), Eigenmann (11), Pedaschenko (22) und anderen. Eine Zusammenstellung der Literatur findet sich bei Beard. Boveri (9a) hat später bei Ascaris megalocephala die Geschlechtszellen sogar bis zur ersten Eifurchung zurückverfolgen können.

Was nun die höheren Tiere angeht, so liegt hier die Sache schwieriger. Bei Vögeln und noch mehr bei Säugetieren fällt das am meisten Charakteristische der Geschlechtszellen, der lange Bestand von Dottersubstanz, weg. Hier ist auch der meiste Widerspruch erfolgt.

Zwar sahen schon Borsenkow (9) und Bornhaupt (8) beim Hühnchen vom 5. Bebrütungstage in der Epithelverdickung der medialen Urniere grosse Zellen, die Borsenkow aber als vergrösserte Epithelien deutete und die nach seinen Angaben am

8. Tage wieder verschwänden. Waldeyer (26) blieb es vorbehalten, ihre Bedeutung aufzuklären.

Dieser Autor konnte die grossen Zellen bereits am 4. Tage an derselben Stelle beim Hühnchen nachweisen, zu einer Zeit also, wo von einer sicheren Differenzierung der Keimdrüse in Hoden oder Ovarium noch nicht gesprochen werden kann, und beschrieb sie als „grosse rundliche Zellen mit glänzenden rundlichen Kernen". Von der Ansicht ausgehend, dass er hier die jüngsten Stadien der Eier vor sich habe, nannte Waldeyer diese Zellen „Ureier" und die Epithelverdickung, aus deren kleinen Elementen die „Ureier" durch Grössenzunahme entstehen sollten, „Keimepithel".

Nach Waldeyer haben dann die meisten Forscher, die die embryonale Keimregion untersuchten, auch dieser Frage Beachtung geschenkt.

So findet z. B. Egli (10), der im übrigen Waldeyers Angaben über die Verdickung des Keimepithels auch für den Kaninchenembryo von 12 Tagen bestätigen kann, keine primordialen Eizellen darin.

Paladino (21) und Nagel (17) beschrieben sie jedoch bereits bei jungen Stadien vom Menschen ausserhalb der Keimdrüsenanlage, und zwar ersterer am Mesenterium und letzterer in der Nähe des Wolffschen Ganges.

Mihálkovicz (15), der eingehende Untersuchungen über die Entwicklung des Harn- und Geschlechtsapparates der Amnioten angestellt hat und der Meinung ist, dass es vor der Differenzierung der Keimdrüse bei Säugetieren keine Geschlechtszellen gibt, spricht bei menschlichen Embryonen unter 20 mm in der Genitalregion von grösseren, rundlichen Zellen von 0,012 mm, die sich schwächer färben und deren Kern „soviel, wie die kleineren Zellen selbst, nämlich 0,009 mm misst".

Alle diese Autoren nun sehen, soweit sie Ureier, primordiale Eizellen etc. beschrieben haben, in diesen Bildungen des Keim- bezw. Coelomepithels.

Die ersten Angaben im Sinne der Lehre von der primären Sonderung der Geschlechtszellen machte für die Vögel Nussbaum (19), der sie beim Hühnchen schon am 2. Bebrütungstage im visceralen Mesoblast sah, von wo sie durch eine Wanderung in die Keimregion gelangten. Eingehender haben sich dann noch

Allen und Rubaschkin (23) bei Ente und Huhn zu dieser Frage geäussert.

Von Autoren, die bei Säugetieren Geschlechtszellen beschrieben haben, möchte ich Skrobansky (25), Allen (1) und Rubaschkin (24) nennen. Letzterer hat sie bei Kaninchen- und Meerschweinchenembryonen bis ins Entoderm zurückverfolgen können.

Zu anderen Resultaten als die der zuletzt genannten Forscher sind ausser Mihálkovicz namentlich v. Winiwarter und Sainmont sowie in gewissem Sinne auch Minot gekommen. Diese verneinen oder bezweifeln die Anschauung, dass es sich bei den grossen Zellen um Geschlechtszellen handele, und sehen teils in ihnen eine vorübergehende vergrösserte Form der gewöhnlichen Keimstrangzellen („forme hypertrophique passagère des cellules ordinaires des cordons" v. Winiwarter und Sainmont [28]), teils wie Minot (16) vermuten sie, dass jedenfalls vielfach die als extragenitale Geschlechtszellen beschriebenen Zellen als Vorstadien von Mitosen angesehen werden müssen, da sie in Gegenden liegen, von wo sie nie in die Geschlechtsdrüse gelangen können.

Über die Geschlechtszellen des Menschen existieren meines Wissens nach noch keine die erste embryonale Entwicklung betreffenden Darstellungen, da die oben erwähnten Mitteilungen von Nagel und Paladino bereits ältere Stadien als Vorlage haben.

Der Freundlichkeit von Herrn Dr. Cramer, Bonn, verdanke ich drei junge menschliche Embryonen aus der 2. bis 4. Woche, an denen sich der Ablauf der Geschlechtszellenentwicklung in den bisher für den Menschen noch nicht beschriebenen Phasen zur Genüge erkennen lässt. Für die weitere Darstellung muss dann auf Kaninchen- und Schweineembryonen bezug genommen werden, bei denen ja eine grundsätzliche Verschiedenheit nicht bestehen dürfte.

Im ganzen wurden mehr als 20 Säugetierembryonen untersucht. Vom Schwein fehlten uns die frühen Stadien, während andererseits wieder vom Menschen die älteren mangelten bis auf einen Embryo von 9 Wochen, der aber hier nicht in Betracht kommt. Die Kaninchenembryonen wurden vergleichsweise herangezogen. Ausserdem stellte mir Herr Geheimrat Nussbaum seine Serien vom Hühnchen freundlichst zur Verfügung.

Von diesen Stadien sollen im einzelnen beschrieben werden:
1. ein menschlicher Embryo von ca. 2,5 mm (2. Woche);
2. „ „ „ „ „ 3,5 „ (3. „);
3. „ „ „ „ „ 5[1]) „ (4. „);

a) ein Schweineembryo von 7 mm;
b) „ „ „ 10 „ ;
c) „ „ „ 14 „ ;

α) ein Kaninchenembryo von 9 Tagen $4^{1}/_{2}$ Stunden;
β) „ „ „ 10 „ 6 „ ;
γ) „ „ „ 13 „ —

Da diese Werte natürlich nur annähernd das Entwicklungsstadium anzugeben vermögen, so verweise ich bezüglich der genaueren Verhältnisse auf die spätere Beschreibung und die zugehörigen Textfiguren.

Die Methoden nun, nach denen dies Material verarbeitet wurde, waren die allgemein in der Histologie gebräuchlichen.

Die Fixierung geschah bei den menschlichen Embryonen 1 und 2 in Flemmingscher Flüssigkeit (starkes Gemisch), 3 war in Sublimat fixiert. Von den Schweineembryonen stammten b und c aus Sublimat, a war ein Zenkerpräparat. Die Kaninchenembryonen, die sämtlich lebendfrisch in nicht erwärmte Flüssigkeiten eingelegt wurden, waren teils in Zenker, teils in Hellys Gemisch (Zenker-Formol), in letzterem allerdings nur bis zu 6 Stunden fixiert.

Die Einbettung geschah in der üblichen Weise in Paraffin.

Die Dicke der Serienschnitte schwankt bei den verschiedenen Embryonen zwischen 5 und 15 μ. Genauere Angaben finden sich bei Beschreibung der einzelnen Schnitte.

Was die Färbung angeht, so sind die Flemmingpräparate teils in Safranin (1 u. 2, β u. γ), teils in Gentianaviolett (β u. γ) gefärbt, die Sublimat-, Zenker- und Formolpräparate dahingegen alle in Hämalaun-Eosin. Diese letztere Methode erwies sich als ebenso einfach wie zweckentsprechend. Die von Rubaschkin erstrebte tinktorielle Differenzierung der Geschlechtszellen von den somatischen Zellen durch Anwendung von Azur-Eosin lässt sich übrigens, wie geeignete Präparate zeigen, bei der richtigen Technik auch mit dieser Färbung erreichen. Zu dem Zwecke

[1]) Dieser Embryo war stark ventral flektiert, weshalb die Massangabe geringe Bedeutung besitzt.

ist es nötig, die Hämalaunpräparate kräftig zu bläuen und ebenso kräftig mit Eosin (Alkoh.) nachzufärben. Dann erscheinen die somatischen Kerne blau, während die Kerne der Geschlechtszellen sich zart rot tingieren und das Kernkörperchen leuchtend rot hervortritt.

Die Geschlechtszellen in den Keimblättern.

Der jüngste von mir auf diesem Stadium untersuchte Embryo stammt vom Menschen. Er stellt die beginnende Mesoblastdifferenzierung dar und besitzt noch ein vollständig offenes Neuralrohr und ebenso einen noch offenen Darm. Nur das äusserste caudale Ende des letzteren scheint geschlossen. Da der Embryo mit seinen Eihäuten und einem Stück Uteruswand verarbeitet wurde, um auch noch anderen Untersuchungen dienen zu können, so war es schwierig, genau die Zahl der Urwirbel festzustellen. Jedenfalls aber ist das Schwanzende noch unsegmentiert. Die grösste Länge betrug etwa 2,5 mm.

Dieser Embryo nun wurde ganz in 7,5 μ dicke Querschnitte zerlegt und die Schnitte in Safranin 24 Stunden gefärbt.

Was die Verteilung der Geschlechtszellen angeht, so verhielt es sich damit folgendermassen.

In dem caudalen geschlossenen Endabschnitte des primitiven Darmes, welcher nur auf einer ganz winzigen Strecke besteht, finden sich einige Geschlechtszellen. Diese liegen teils im Darmepithel selbst und zum kleineren Teile im Gewebe in der Nähe des Darmes. In den noch offenen Darmabschnitten sieht man sie dann in dem eigentlichen Enteroderm auftreten und höher hinauf weiter lateral bis zum Dotterblatte hin.[1])

Hier zeigen sich eigentümliche Verhältnisse, die vielleicht auf den noch früheren Aufenthaltsort der Geschlechtszellen einiges Licht zu werfen geeignet sind. Betrachtet man nämlich die Zellen des inneren Dotterblattes, so sieht man unter seinen für gewöhnlich niedrigen Elementen solche, die sich histologisch nicht von den Geschlechtszellen trennen lassen. Auch im Mesoblast findet man wohl einmal eine dieser grossen Zellen. Vielleicht sind sie dorthin bereits in einem früheren Entwicklungsstadium aus dem Entoblast verlagert worden. Im übrigen scheinen sich die Geschlechtszellen fast stets an der dem Mesoblast zugewandten Seite des inneren

[1]) Tafel I, 1.

Keimblattes voranzubewegen, während die gegen die freie Darmhöhle gelegene vermieden wird. Dabei haben sie meist einen in die Länge gezogenen Leib, indes der Kern gewöhnlich seine schöne Rundung beibehält.

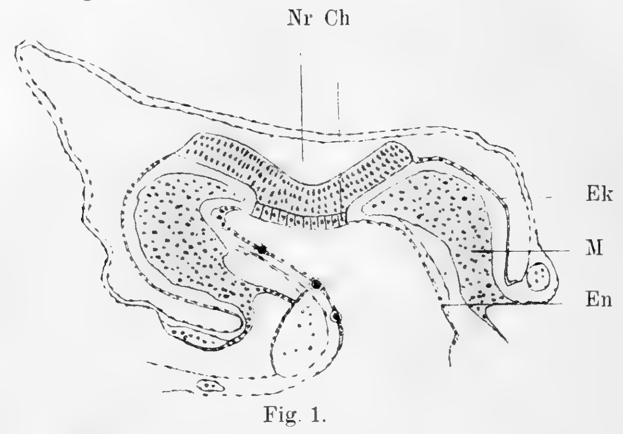


Fig. 1.

Ch = Chorda; Ek = Ektoblast; En = Entoblast; G = Gefäss; M = Mesoblast; Nr = Neuralrinne. Die drei grossen Zellen sind Geschlechtszellen.[1])

Dieses Stadium der Protoplasmafortsätze deutet zweifellos auf eine amöboide Bewegung der Zellen und zwar in der Richtung auf die Keimregion zu. Denn während die übrigen Entoblastzellen ein zum Kern annähernd symmetrisch geordnetes Protoplasma haben, ist dasjenige der Geschlechtszellen meist nach einer Seite und zwar in der Fortbewegungsrichtung ausgezogen. Sonst zeigen diese Zellen alle Charakteristika, wie sie von den Geschlechtszellen beschrieben werden. Nur ihre Grösse ist etwas erheblicher. Diese beträgt nämlich im Mittel für den Kern 11 μ, für das Protoplasma im grössten Durchmesser 19—20 μ (bei Leitz Ok. 2, Obj. 7, Tubuslänge 160). Die grössten Mesoblastkerne massen in ihrer Längenausdehnung nicht über 9, die des Enteroderms nicht über 6 μ.

Was die Verteilung der Geschlechtszellen in der Längsachse des Embryo angeht, so beschränkt sich ihr Vorkommen auf das

[1]) Sämtliche Textfiguren sind bei Seibert Apochr. 8 mm, Komp.-Ok. 2 gezeichnet. Was die Einzeichnung der Geschlechtszellen anlangt, so sind Lage und Zahl genau richtig wiedergegeben; nur ist eine stärkere Vergrösserung als sie dem Maßstab der übrigen Teile der Figuren entsprechen würde, gewählt, um sie auffälliger erscheinen zu lassen.

caudale Drittel, welches noch keine Segmentierung zeigt. Die cranialen zwei Drittel sind frei davon.

Ein diesem menschlichen Embryo in vielen Dingen ähnliches Bild bieten die Kaninchenembryonen von 9 Tagen $4^1/_2$ Stunden. Sie sind allerdings etwas weiter entwickelt. Denn die Differenzierung im parietalen und visceralen Mesoblast hat sich bereits vollzogen, und das Neuralrohr ist bis auf den Neuroporus geschlossen. Ebenso ist der Enddarm in grösserer Ausdehnung zum Rohr umgebildet, und die Segmentierung ist weiter caudalwärts geschritten. Auch der Wolffsche Gang hat sich jetzt angelegt.

Die Embryonen dieser Gruppe wurden in 7,5 μ dicke Querschnitte zerlegt und diese mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Die Geschlechtszellen liegen hier meist in den medialen Partien des Entoblastes, aus denen sich der primitive Darm bildet. Da, wo dieser caudal geschlossen ist, befinden sie sich im Darmepithel und im Mesenchym der nächsten Umgebung. Ihre Zahl ist sehr gering. Wie beim Menschen, so liessen sich auch hier von den Geschlechtszellen nicht zu unterscheidende Zellen bis in das Dotterblatt verfolgen. Einmal wurde eine Geschlechtszelle in der Gegend des späteren Keimepithels gesehen. An dieser Stelle ist allerdings ihre Bestimmung erschwert, da die Zellen der Keimregion um diese Zeit eine bedeutende Grösse annehmen, ein Umstand, der offenbar mit der Bildung der Urniere zusammenhängt. Wenn nun auch diese Zellen die Geschlechtszellen an Grösse nicht erreichen, so verliert doch das sonst so augenfällige Merkmal der Grösse sehr an Deutlichkeit.

Von einem eigentlichen Keimepithel kann aber auf diesem Stadium noch nicht gesprochen werden, noch viel weniger natürlich bei dem zuerst beschriebenen Embryo vom Menschen. Es handelt sich lediglich um eine allgemeine Vergrösserung der Zellen der Keimregion.

Da nun die Geschlechtszellen bei diesen Embryonen entodermal liegen, so darf es einigermassen überraschen, dass sie beim Hühnchen auf entsprechenden Stadien, d. h. in der ersten Hälfte des 2. Bebrütungstages, im visceralen Mesoblast gefunden werden, wie dies bereits von Nussbaum und Rubaschkin beschrieben worden ist. Ersterer fand dort Mitosen der grossen Zellen, ebenso Rubaschkin, der sie jedoch nur als Ausnahme

gelten lassen will und ihre Bedeutung für die Vermehrung nicht hoch anschlägt.

Bei den Säugetieren scheint in den Keimblättern eine Vermehrung der Geschlechtszellen durch Karyokinese entweder gar nicht oder nur in geringem Umfang stattzufinden. Dafür spricht auch ihre enorme Grösse und der so häufig negative Befund an Mitosen.

Die Geschlechtszellen im Darmepithel und Mesenterium.

Hierhin gehören die menschlichen Embryonen von 3 und 4 Wochen, ferner die Kaninchenembryonen von 10 Tagen 6 Stunden und der Schweineembryo von 7 mm grösster Länge.

Ich beschreibe wieder zunächst die allgemeinen Verhältnisse bei den einzelnen Embryonen, soweit sie für eine ungefähre Abschätzung des Entwicklungsstadiums von Belang sind.

Bei dem ersten dieser beiden menschlichen Embryonen, dessen Alter gynäkologischerseits auf 14 Tage angegeben wird, war das Neuralrohr bis auf den Neuroporus geschlossen, während der primitive Darm oben noch weit offen stand. Die Segmentierung reichte bis zum caudalen Ende. Die primitiven Aorten hatten sich noch nicht vereinigt und die Wolffschen Gänge erst in einigen cranial gelegenen Schnitten gebildet. Von der Urniere war noch nichts zu bemerken.

Von diesem Embryo wurden 7,5 μ dicke Serienschnitte angefertigt und nachher in der üblichen Weise in Safranin gefärbt.

Die Geschlechtszellen fanden sich im Verhältnis zu dem jüngeren Stadium vom Menschen ziemlich zahlreich und zwar zumeist in dem Epithel des in grosser Ausdehnung geschlossenen Darmes. Da, wo dieser in den cranialen Partien noch nicht geschlossen war, lagen vereinzelt einige im Enteroderm. Ebenso sind sie im Mesenterium in geringerer Zahl vorhanden und dann hauptsächlich lateral und dorsal vom Darm.[1])

Hin und wieder sieht man auch einmal Geschlechtszellen im Mesenterialepithel und in den ventralen Gekröseabschnitten. Auf diesem Stadium scheint sich bereits in den caudalen Segmenten ihre Auswanderung aus dem Darmepithel zu vollziehen. Es finden sich nämlich Formen, die halb im Epithel und halb im Mesen-

[1]) Tafel I. 2.

terialgewebe liegen. Bisweilen beobachtet man dann bei den im hohen Epithel des Darmes liegenden Zellen, dass sie wie in einer Vacuole liegen. Vermutlich handelt es sich hier um Schrumpfungsprozesse des Plasmas infolge der Fixierung. Ob übrigens Geschlechtszellen, ohne vorher in das Darmepithel zu geraten, gleich in das Mesenterium gelangen können, scheint nach den Befunden von Geschlechtszellen im visceralen Mesoblast nicht ausgeschlossen.

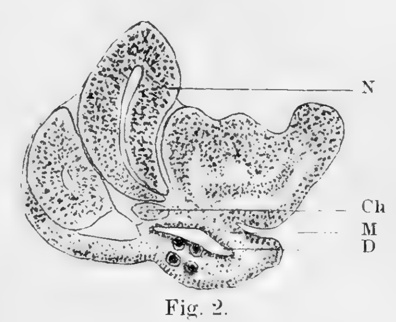


Fig. 2.

Ch = Chorda; D = Darm; M = Mesenterium; N = Neuralrohr. Die vier grossen Zellen sind Geschlechtszellen.

Über das Keimepithel lassen sich bei der schrägen Schnittführung durch den Embryo, welche ihrerseits wieder in der starken Verkrümmung desselben ihren Grund hat, keine bestimmten Angaben machen. Doch besteht das Epithel der Peritonealhöhle durchweg aus hohen Zellen und wechselt ohne erkennbare Gesetzmässigkeit in seiner Dicke.

Fast denselben Befund in bezug auf die Geschlechtszellen bieten die Kaninchenembryonen von 10 Tagen 6 Stunden, während sie sonst körperlich schon etwas weiter entwickelt sind. Der Wolffsche Gang ist nämlich in seiner ganzen Ausdehnung zu verfolgen, und vor allen Dingen findet sich die Urniere in Gestalt einiger Harnkanälchen bereits angelegt. Ferner ist das Darmrohr bis auf den Darmnabel geschlossen. Ein offener Neuroporus besteht nicht mehr.

Diese Kaninchenembryonen wurden 10 μ dick geschnitten und die Zenkerpräparate mit Hämalaun-Eosin oder Hämalaun-Kongorot gefärbt, die in Flemmingscher Flüssigkeit konservierten und teilweise 5 μ dick geschnittenen Exemplare dagegen in Safranin oder Gentianaviolett.

Bei den Embryonen finden sich die Geschlechtszellen im Darmepithel und um dasselbe. Einzelne liegen auch im Peritonealüberzuge des Mesenteriums und selten eine bereits am Epithel der Keimregion. In der Längsachse des Embryos verteilten sie sich auf das caudal von der Arteria omphalomesenterica gelegene Gebiet. Das äusserste Darmende war frei.

Auf diesem Stadium nun, wo sich die eigentliche Peritonealhöhle zu bilden beginnt, ist es nicht ohne Interesse, das Verhalten des Epithels derselben zu beachten. Man sieht dann, dass in den caudalen Partien das Epithel der ganzen Peritonealhöhle, cranialwärts bald das Mesenterialepithel, bald das Epithel auf dem Wolffschen Körper verdickt ist. Die medialen Partien des letzteren (die sog. Keimregion) bilden also kaum eine Besonderheit.

Weiter als die Kaninchenembryonen von 10 Tagen 6 Stunden ist der Schweineembryo von 7 mm entwickelt. Hier sind die beiden Aorten fast überall vereinigt. Darm- und Neuralrohr sind geschlossen, und die Urniere zeigt bereits die ersten Ansätze zur Glomerulusbildung. An den lateralen Körperpartien deuten vier Wülste die Anlagen der Extremitäten an.

Zur Untersuchung wurde der Embryo in 10 μ dicke Serienschnitte zerlegt und diese mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Bei ihm lassen sich drei Regionen unterscheiden, auf denen sich die Geschlechtszellen verschieden verhalten. Geht man nämlich etwa von der Anlage der hinteren Extremitäten cranialwärts bis zur Arteria omphalomesenterica, so liegen sie im caudalen Drittel im Darmepithel, im mittleren Drittel im dorsalen Mesenterium und im letzten, cranialen Drittel bereits in der eigentlichen Keimregion. Die Grenzen der einzelnen Abschnitte sind natürlich keine scharfen, sondern gehen allmählich ineinander über. Da nun in dem caudalen Teile der Darm den Arteriae iliacae nahe anliegt, so dürfte trotz der verschiedenen Lage der Geschlechtszellen eine grössere zeitliche Differenz in ihrem Erscheinen an der Keimregion nicht bestehen.[1])

Ausser an diesen Stellen findet man wohl auch noch Geschlechtszellen im ventralen Mesenterium.

Im ganzen beträgt ihre Zahl annähernd 150. Ihre Grösse ist geringer als die bei den jungen Embryonen vom Menschen und misst etwa 9 μ für den Kern und 13—14 μ für das Protoplasma.

Ein eigentliches Keimepithel ist nicht vorhanden. Die Epithelzellen auf dem Wolffschen Körper zeigen eine kubische bis zylindrische Gestalt, was hauptsächlich in den cranialen Teilen hervortritt, während caudal und in der Mitte diese Erscheinung noch deutlicher am Mesenterium zu sehen ist.

---

[1]) Tafel I, 3.

Sind die Befunde an diesem Embryo mit einer verhältnismässigen Sicherheit gewonnen, so ist es mir sonderbarerweise nicht gelungen, an einem um ein geringes älteren Stadium vom Schwein eine auch nur annähernd so grosse Anzahl von Geschlechtszellen nachzuweisen.

Dieser Embryo war auf die gleiche Weise konserviert wie der vorige und wies nur insofern eine kleine Abweichung auf, als die primitiven Aorten bei ihm deutlich verschmolzen sind.

Die Geschlechtszellen zeigten ausser geringerer Zahl auch eine geringere Grösse; ferner traten die färberischen Eigenschaften nicht so in den Vordergrund als gewöhnlich. Es färbte sich z. B. das Kernkörperchen weniger rot, und der Kern tingierte sich stärker mit Hämalaun. Was nun diese letzteren Abweichungen angeht, so erschweren sie natürlich das Auffinden der Zellen sehr, und es liesse sich denken, dass durch den Mangel so auffälliger Merkmale eine geringere Zahl von Geschlechtszellen nur vorgetäuscht werde. Diese Annahme ist auch zweifellos bis zu einem gewissen Grade richtig. Es kommt nämlich noch folgendes hinzu.

Neben den in geringer Anzahl vorhandenen normalen Geschlechtszellen finden sich im dorsalen Mesenterium und in der Keimregion noch zahlreiche kleine und wenig charakteristisch gefärbte Zellen, deren übrige Form sehr an die der primären Geschlechtszellen erinnert.

Da es nun bekannt ist, dass die Vermehrung der Oo- und Spermatogonien schubweise erfolgt, so dürfte es nicht schwer fallen, diesen Modus auch für die Geschlechtszellen gelten zu lassen und in dem oben beschriebenen ein Stadium nach einem solchen Schube zu sehen, wo die Zellen nach der Teilung noch nicht die normale Grösse haben erlangen können und das Chromatin sich noch nicht völlig gesammelt hat. Diese Annahme durch eine entsprechende Zahl von Mitosen in einem jüngeren Embryo zu beweisen, bin ich nicht in der Lage. Doch findet sie immerhin eine Stütze in der Tatsache, dass sich in dem folgenden grösseren Schweineembryo von 10 mm eine erheblich höhere Anzahl von Geschlechtszellen nachweisen lässt als in dem zuerst beschriebenen von 7 mm.

Zu den Embryonen dieser Gruppe gehört dann noch der menschliche Embryo von ca. 4 Wochen, über den ich in Band 39 des Anatomischen Anzeigers bereits einige Angaben gemacht habe.

Er zeigt ebenfalls nicht so schön typische Verhältnisse bezüglich der Geschlechtszellen als der Schweineembryo von 7 mm.

Der Darm ist bei ihm geschlossen, und die primitiven Aorten sind vereinigt. Die meist aus einer Schlinge bestehenden Harnkanälchen münden fast durchweg in den Wolffschen Gang. Im Gegensatz aber zu dem vorhergehenden Embryo vom Schwein hat hier die Glomerulusbildung noch nicht begonnen. Lateral heben sich die Extremitäten bereits in Form von vier kurzen Stummeln ab.

Nachdem dieser Embryo in 10 μ dicke Querschnitte zerlegt und mit Hämalaun-Eosin gefärbt war, ergab sich bezüglich der Geschlechtszellen folgendes.

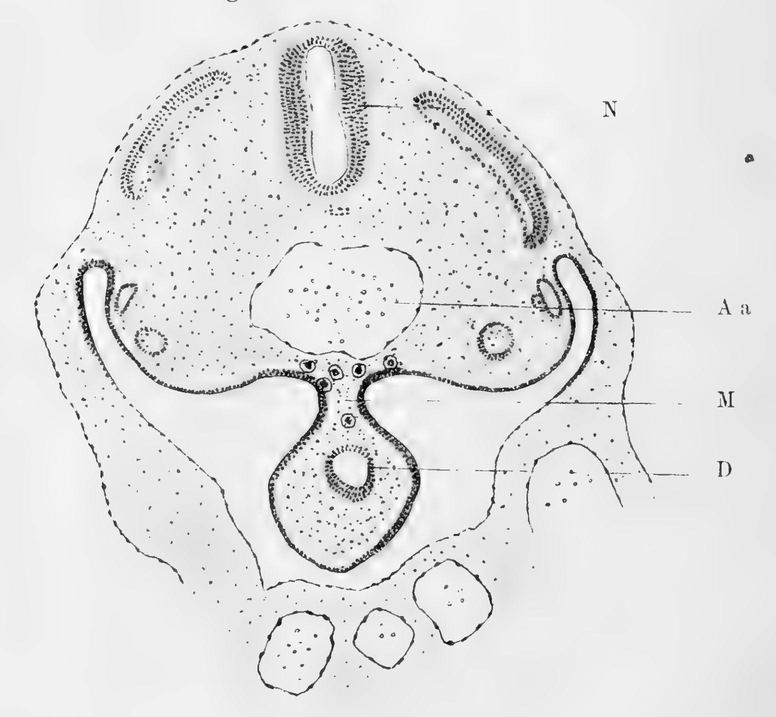


Fig. 3.
A a = Aorta abdominalis; D = Darm; M = Mesenterium; N = Neuralrohr. Die sechs grossen Zellen sind Geschlechtszellen.

Sie liegen nur mehr ausnahmsweise im Gebiete des primitiven Darmes und finden sich weitaus am meisten im dorsalen Mesenterium bis gegen die Aorta abdominalis hin. Hier, an der

Gekrösewurzel, geraten sie auch leicht unter das Peritonealepithel, da, wo es sich vom Mesenterium auf die Urniere umschlägt. Es ist das vermutlich ohne besondere Bedeutung und nur die Folge einer primären Wucherung der Epithelien, durch die die ohnehin schon schmale Passage vom dorsalen Mesenterium zur Keimregion noch mehr verengert wird.[1])

Auch in der Gegend der Geschlechtsdrüsenanlage finden sich Geschlechtszellen. Doch sah ich sie hier nicht im Epithel liegen.

Ein eigentliches Keimepithel fehlt noch. Bezüglich der Epithelverdickungen in der Peritonealhöhle bietet dieser Embryo ähnliche Befunde dar wie der Schweineembryo von 7 mm. Die Zellen sind kubisch bis zylindrisch; in den caudalen Abschnitten kommen sie am Mesenterium, cranialwärts hauptsächlich im Bereich der Keimregion in ein bis zwei Lagen vor.

Die Geschlechtszellen in der Geschlechtsdrüsenanlage.

Von diesem Stadium fehlen die menschlichen Embryonen, und ich bin gezwungen, mich auf die Verhältnisse beim Schwein und Kaninchen zu beziehen. Dass diese jedoch beim Menschen keine prinzipiell verschiedenen sein können, dürfte bereits an dem Embryo von 4 Wochen erkannt werden. Ferner verweise ich auf die Darstellungen von Nagel (17) und Waldeyer (27), die menschliche Embryonen von 12 mm, 13 mm und darüber untersucht und Genitalzellen in der Keimdrüsenanlage gefunden haben, bevor diese sich noch zu Hoden oder Eierstock differenzierten. Bei dem Embryo von 12 mm ist nach Nagels Angaben das sonst einschichtige Coelomepithel auf der medialen Urniere höher (14—19 μ) und deutlich abgegrenzt. Beim Embryo von 13 mm beginnt bereits die Gruppierung der Zellen zu Strängen, und das Keimepithel ist 0,03 mm hoch und 0,5 mm breit. Auf diesem Stadium sind die Geschlechtszellen wenig zahlreich. Sehr interessant ist die Bemerkung Nagels, dass er bei einem männlichen Embryo gleichen Alters keine Geschlechtszellen gefunden habe. Er sowie Waldeyer nehmen an, dass die Keimdrüse bei jungen menschlichen Embryonen (12—13 mm), die aus wenigen Geschlechtszellen und strangförmigem Gewebe besteht, männlichen

[1]) Tafel II, 4.

Charakter zeigen wird, dass dagegen diejenige, „in denen die Zellhaufen rundlich sind und die grossen hellen Geschlechtszellen reichlicher sich zeigen“, weiblich sein dürfte.

Betrachten wir nun die Verhältnisse beim Schweineembryo von 10 mm, bei dem bereits die Mehrzahl der Geschlechtszellen in der Keimregion auftritt, so finden wir hier beiderseits an der medialen Seite der Urniere eine geringe, polsterartige Erhöhung. Das ist die erste Anlage der Keimdrüse. Über dieser Vorbuckelung (siehe Textfig. 4) ist das dem Zylinderepithel nahestehende Epithel bis zu zwei Zellagen vorhanden, die sich mehr oder weniger deutlich gegen das noch gering entwickelte Mesenchym hin absetzen. Die wallartige Erhebung erstreckt sich über einen grösseren Abschnitt der Urniere und nimmt etwa in dem caudalen und mittleren Drittel derselben zwischen Vorder- und Hinterextremität einen Raum von 2 mm Länge ein. Der Breitendurchmesser beträgt ca. 1/7 mm, die Höhe des Epithels ca. 10 μ.

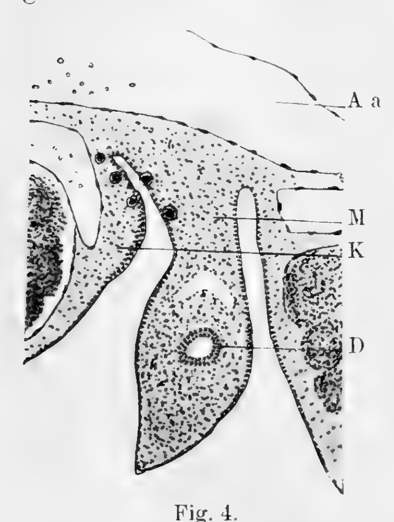


Fig. 4.
A a = Aorta abdominalis; D = Darm; K = Keimwall; M = Mesenterium Die fünf grossen Zellen sind Geschlechtszellen.

Sowohl im Mesenchym als auch im Epithel des Keimwalles, ferner noch im Bereiche des dorsalen Mesenteriums findet man zahlreiche Geschlechtszellen. Ihre Zahl dürfte mit 200 wohl nicht zu hoch gegriffen sein. Ihre mittlere Grösse beträgt 9 μ für den Kern- und 13—14 μ für den Durchmesser der Zelle. Man findet sie häufig auf einem Schnitte teils an der Keimregion und zum anderen Teile noch im Mesenterium.

Dadurch wird ein direkter Vergleich der genitalen und extragenitalen Geschlechtszellen möglich.[1] Ausser dem Bereiche des Keimwalles kommen Geschlechtszellen cranialwärts ungefähr bis zur Höhe der Arteria omphalomesenterica vor. Sie sind jedoch dort nur in geringerer Zahl vorhanden und liegen meist an der Übergangsstelle vom Mesenterium auf die Urniere. Der

[1]) Tafel II, 5.

Darm, der an einem sehr langen Gekröse hängt, ist um diese Zeit völlig frei von Geschlechtszellen.

Dabei zeigt es sich, dass das Mesenterialgewebe in seinen ventralen Partien bereits anfängt, dichter zu werden, was auch bei schwacher Vergrösserung an der intensiveren Färbung erkennbar ist. Gleichzeitig nimmt das Peritonealepithel über dem verdichteten Teile des Mesenteriums eine mehr flache Beschaffenheit an. Dieser Vorgang ist nicht ohne Bedeutung, da nach seiner Beendigung sich keine Geschlechtszellen mehr im Mesenterium befinden. Nur an der äussersten Gekrösespitze sieht man noch hier und da eine. Sie sind klein und unansehnlich und scheinen dort zugrunde zu gehen.

Was nun die allgemeinen Entwicklungsverhältnisse dieses Schweineembryos angeht, so beginnt das verdickte Epidermisblatt sich über der Augenblase einzustülpen. Die Aorta abdominalis bildet ein einziges Rohr, und neben der Medulla spinalis sind die Intervertebralganglien angelegt. Die Urniere zeigt wohl ausgebildete Glomeruli.

Auch dieser Embryo war in 10 μ dicke Querschnitte zerlegt und mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Eine ähnliche Anordnung der Geschlechtszellen weist das Hühnchen von 2 Tagen 20 Stunden Bebrütungszeit auf. Hier liegen die grossen Zellen teils in dem bereits gebildeten Keimepithel und teils ausserhalb mesenterialwärts. Man sieht unter ihnen deutlich Mitosen. Auf diesem Stadium ist der Darm des Hühnchens noch nicht völlig geschlossen, ein Umstand, der bei dem enormen Dottermaterial des Hühnereies ja verständlich ist.

Zwischen dem zuletzt beschriebenen Embryo vom Schwein und dem von 14 mm stehen nun die Kaninchenembryonen von 13 Tagen.

Diese Embryonen wurden in Serienschnitte von 5 μ zerlegt und je nach der Fixierung in Hämalaun-Eosin oder Safranin bezw. Gentianaviolett gefärbt.

An ihnen findet sich ein mehrschichtiges, gut gegen das Mesenchym abgesetztes, ca. 0,014 mm hohes Keimepithel über dem Keimwall, wie es schon Egli beschrieben hat. Es liegt medial und etwas ventral an der Urniere und erstreckt sich etwa in derselben Ausdehnung, wie das für den Schweineembryo von 10 mm angegeben wurde. Auch hier ist das Gebiet des ventralen Mesenteriums verdichtet.

Die Geschlechtszellen sind verhältnismässig wenig zahlreich. Sie liegen meist in oder dicht unter dem Epithel des medialen Urnierenrandes bis zur Gekrösewurzel hin. Bisweilen findet man sie jedoch tiefer im Gewebspolster des Keimwalles und vereinzelt im dorsalen Mesenterium.

Fast dieselben Verhältnisse wie bei diesen Kaninchenembryonen finden sich auch beim Hühnchen von 4 Tagen 7 Stunden Bebrütungszeit. Nur prägen sich hier die Unterschiede zwischen Keimepithelzellen und Geschlechtszellen besonders schön aus. Man kann die letzteren bis zur Mesenterialwurzel zurückverfolgen, während sie im eigentlichen Mesenterium und im Darm fehlen. Auf diesem Stadium dürfte auch eine stärkere Vermehrung der Geschlechtszellen stattfinden, was aus den häufig anzutreffenden grossen Mitosen erkennbar ist. Ausser diesen Mitosen sieht man wohl auch einmal eine Zelle, die bei schwacher Vergrösserung einer mitotischen Figur gleicht, bei Anwendung stärkerer Systeme aber folgende Beschaffenheit aufweist.

In einem Riesenkern, um den noch zuweilen ein ganz zarter Protoplasmasaum sichtbar ist, findet man das Chromatin in einer hufeisenförmigen Anordnung und zwar in zwei konzentrisch verlaufenden Bändern. Diese sind in querer Richtung mehrfach unterbrochen. Daneben enthält der Kern fast immer zahlreiche Chromatinbröckel. Diese Formen sah ich nur hier und bei dem nun folgenden Schweineembryo von 14 mm. Sie dürften wohl Degenerationsformen der grossen Kerne darstellen.

Der Schweineembryo von 14 mm grösster Länge bildet dann den Schluss dieser Serie von Embryonen mit noch undifferenzierter Keimdrüse. Er war in 15 μ dicke Querschnitte zerlegt und mit Hämatoxylin gefärbt. Die Zahl seiner Urwirbel beträgt etwa 37. Mikroskopisch zeigt er bereits alle Organe in guter Entwicklung. Das Keimepithel, dessen Dicke gering ist, beginnt eben die ersten Stränge in die Tiefe zu senden. Über dem Keimwall liegt es in zwei Lagen kubischer bis zylindrischer Zellen, die auf der übrigen Urniere sowie am Mesenterium flacheren Elementen Platz machen. Unter dem Epithel ist das Mesenchym kräftig entwickelt. Die ganze Anlage erstreckt sich auf das untere bis mittlere Drittel der Urniere. An dem Epithelüberzug ist vielleicht auffällig die grosse Zahl von Mitosen der gewöhnlichen Epithelzellen. Was die Verdichtung des Gewebes angeht, so hat sie sich über das

ganze Gebiet des Mesenteriums sowie des medialen Urnierenrandes ausgedehnt. Dorsalwärts schliesst sie mit der Aorta abdominalis ab. Die intensiv blaue Färbung dieses Komplexes fällt bei schwacher Vergrösserung gleich in die Augen.

In dem Mesenchym des Keimwalles, seltener im Epithel finden sich nun die Geschlechtszellen in der grössten Mehrzahl, jedoch in geringerer Anzahl auch noch eine Strecke weit caudal- und cranialwärts über den Geschlechtswall hinaus. Da, wo bereits Keimstränge anfangen, sich auszubilden, sieht man die Geschlechtszellen auch in den Keimsträngen liegen.[1])

Ihre Anordnung im Mesenchym zeigt keine besondere Gesetzmässigkeit, und die im Epithel liegenden Zellen sind ebenso gross wie die in der Tiefe liegenden. Darin liegt immerhin eine Bestätigung der Anschauung, dass sie nicht als kleine Zellen im Epithel entstehen. Versucht man nun die Gesamtzahl der Geschlechtszellen annähernd zu bestimmen, so dürfte sie mit ca. 350 der Wirklichkeit wohl am nächsten liegen. Eine genaue Angabe lässt sich darüber nicht machen, da, falls man versuchen wollte, die einzelnen Zellen zu zählen, das Resultat nichtsdestoweniger ein unsicheres sein würde, weil es Fälle gibt, wo einer genauen Unterscheidung der Geschlechtszellen unüberwindbare Schwierigkeiten im Wege stehen.

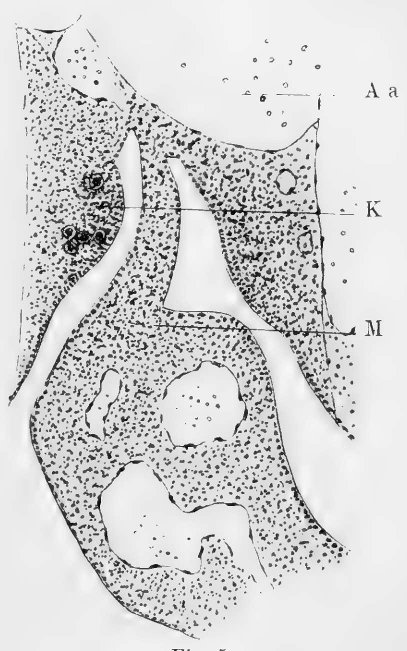


Fig. 5.

A a = Aorta abdominalis; K = Keimwall; M = Mesenterium. Die fünf grossen Zellen sind Geschlechtszellen.

Wir haben im vorigen Abschnitte die Geschlechtszellen in ihren Lagebeziehungen zu den Körpergegenden des Embryos kennen gelernt. Wie sie auf dem Stadium der Keimblätterbildung vom inneren Dotterblatt bis zum Entoderm hin liegen, wie sie dann nach Schluss des primitiven Darmes in diesem und

[1]) Tafel II, 6.

dem zugehörigen Mesenterium und schliesslich in der definitiven Keimdrüsenregion sich vorfinden, dies alles ist an Embryonen der einzelnen Gruppen dargestellt worden. Wir hatten dabei die grossen Zellen Geschlechtszellen genannt, weil sie nach Form und der Folge ihres Auftretens als Vorläufer von Ei- und Samenzelle betrachtet werden können und weil bei anderen Tieren die Entstehung dieser aus wenigen solcher primären Geschlechtszellen nachgewiesen ist. (Nussbaum, Balbiani, Eigenmann, Pedaschenko u. a.)

Von dem Aussehen der Geschlechtszellen machen fast alle Autoren übereinstimmende Angaben. So spricht z. B. Waldeyer (26) bei seinen Ureiern von „grossen rundlichen Zellen mit glänzenden rundlichen Kernen“. Andere, auch solche, die eine spezifische Eigenschaft der grossen Zellen ablehnen, wie v. Winiwarter und Sainmont, erwähnen das grosse, meist zentral gelegene Kernkörperchen. In der Tat fällt dieses meist sehr in die Augen, auch dann, wenn sich, wie meist beim Schwein, zwei oder mehrere Kernkörper von exzentrischer Lage vorfinden. Wenn dagegen von einigen Autoren die Angaben stammen, dass den Ureiern die Kernkörperchen fehlen, so lässt sich das nach unseren Befunden höchstens einmal als Ausnahme bestätigen.[1]) Vermutlich rühren die entgegenstehenden Angaben auch daher, dass die Kernkörper der Geschlechtszellen sich mit acidophilen Farbstoffen schlecht färben. Wie sodann Götte und Nussbaum gezeigt haben, kann als ganz besonders charakteristisch für die Geschlechtszellen der lange Fortbestand an Dotterkörnern gelten. Diese nachzuweisen gelang Nussbaum noch beim Hühnerembryo von 2 Tagen, also zu einer Zeit, wo die Geschlechtszellen noch ausserhalb der Keimdrüsenanlage liegen. Dieser Umstand ist nicht belanglos für die Deutung der Stellung der grossen Zellen, wenn es auch für die Säugetiere nur ausnahmsweise gelingen dürfte, solche Dotterreste in den Geschlechtszellen nachzuweisen. Schliesslich seien noch die Grösse und tinktoriellen Eigenschaften der Geschlechtszellen erwähnt, von denen bereits an einer anderen Stelle die Rede war.

[1]) Derartige Angaben beweisen nur, dass die Kerne in diesem Stadium lange verharren, und dass die mitotischen Veränderungen sehr rasch ablaufen. Selbstverständlich werden auch in den Geschlechtszellen die zur Mitose gehörigen Formen der Kerne gefunden.

Eine eingehendere Darstellung geht über den Rahmen meiner Arbeit hinaus, deren Zweck es lediglich ist, zur Frage nach der „Differenzierung des Geschlechts im Tierreich" einige neue Befunde beizubringen.

Es erübrigt sich jedoch, folgendes noch kurz zu erörtern. Sind die ausserhalb der Keimdrüsenanlage auftretenden Geschlechtszellen auch Vorläufer von Ei- und Samenzelle, und wie gelangen sie in die Keimdrüse?

Den ersten Punkt anlangend, handelt es sich bei den regionären und extraregionären Geschlechtszellen um morphologisch völlig gleichartige Gebilde. Dieser Punkt bedarf keiner näheren Ausführung. Ferner sahen wir immer die Geschlechtszellen an der einen Stelle schwinden, wenn sie an der anderen auftraten. Dieses successive Erscheinen weist uns auf den Zusammenhang der extraregionären und regionären Geschlechtszellen hin. Es zeigt uns den Weg, auf dem sie in die Keimdrüsenregion gelangen. Wie dies geschehen kann, hat bereits Nussbaum für das Hühnchen erörtert. Für die Säugetiere müssen wir hauptsächlich eine aktive Vorwärtsbewegung annehmen, worauf ja auch die pseudopodienartig vorgestreckten Protoplasmafortsätze der Geschlechtszellen hinweisen. Ausserdem findet noch eine passive Weiterbewegung statt, die durch das Wachstum embryonaler Gewebsabschnitte bedingt ist.

Durch diese Wanderung also stehen die extraregionären Geschlechtszellen mit den später an der Keimdrüse auftretenden in Verbindung und sind nach Lage der Verhältnisse als deren direkte Vorfahren zu bezeichnen. Ausserhalb dieser „Keimbahn" haben wir keine Geschlechtszellen.

Was nun die Vermehrung der Geschlechtszellen angeht, so hat ein Teil der Forscher darin zweifellos Mitosen gesehen. Einem anderen ist dies nicht gelungen, obwohl auch von ihnen ausdrücklich die Tatsache der Vermehrung der Geschlechtszellen betont wird. So sagt z. B. Pedaschenko (22): „Zum Ende der Embryonalentwicklung beginnen sie sich zu vermehren; ihre Teilung gelang es mir niemals zu beobachten." Ähnlich äussern sich Böhi und Felix. Nussbaum dagegen sah beim Hühnchen und Frosch Mitosen der Geschlechtszellen in der Splanchnopleura, Minot in Darmwand und Mesenterium. Rubaschkin, der die mitotische Vermehrung auf so frühen Stadien nur als Ausnahme gelten lassen will, denkt sich die Ergänzung der Geschlechtszellen

aus dem Epithel der Splanchnopleura. Für die Säugetiere treten nach demselben Autor die ersten Mitosen in den grossen Zellen erst nach ihrer Einwanderung in das Keimepithel auf.

Wir selbst haben zu einer sicheren Entscheidung bezüglich der Karyokinese in den Geschlechtszellen der Säuger auf Grund unseres sehr jungen Materials nicht gelangen können. Da jedoch nach Schluss des Darmrohres auch ohne den steten Befund von Mitosen die Vermehrung der Geschlechtszellen weiter schreitet, da wir ferner nach Massgabe von Erfahrungen und theoretischen Erwägungen eine Ergänzung der Geschlechtszellen aus den Zellen des Darmes und des Gekröses sowie seines Epithels nicht wohl annehmen können, so dürfen wir den dafür nötigen Beleg an Mitosen vielleicht in den uns nicht zu Gebote stehenden Zwischenstadien zu finden hoffen. Auf diese Weise erklären sich dann auch die entgegengesetzten Angaben der Autoren über diesen Gegenstand, da sie offenbar verschiedene Stadien vor sich hatten. Für eine dritte Möglichkeit übrigens, dass die Geschlechtszellen in atypischer Form einwandern könnten und erst später ihre typische Gestalt annähmen, haben wir keine Belege.

Wenn nun die Verhältnisse, wie hier geschildert, liegen, so stehen wir vor der Frage, welche Bedeutung dann noch dem Keimepithel zukommt.

Nach unseren Befunden scheint es für die Genese der Geschlechtszellen der Säuger keine erhebliche Rolle zu spielen. Erst, wenn die Mehrzahl der Geschlechtszellen in die Keimregion eingerückt ist, gerät es in Proliferation. Es bereitet sich dann die Bildung der Keimdrüse vor. Auf diesem Zustande haben es Nagel und Waldeyer für den Menschen, Allen, Janosik, Nagel und Skrobonsky für das Schwein und hauptsächlich Egli für das Kaninchen beschrieben. Meine Untersuchungen umfassen diese Stadien nicht mehr. Was nun etwaige Angaben über noch frühzeitigere Verdickungen dieser Gegend des Peritonealepithels angeht, so stehen sie mit dem oben Gesagten keineswegs in Widerspruch. Wir finden es an den verschiedensten Stellen der Peritonealhöhle, dass da, wo Gewebe wuchern, auch das Epithel in Proliferation gerät. Ursprünglich ist überhaupt die ganze Peritonealhöhle mit höherem Epithel ausgestattet. Zuerst flacht sich dann das Peritoneum parietale ab, dann erst das viscerale und zwar beginnend mit der Gekrösespitze und fort-

schreitend dorsalwärts. Ebenso wird der Überzug der medialen und lateralen Urniere abgeplattet, wie es schon Waldeyer für das Hühnchen beschrieben hat. Die höheren Zellen des Keimepithels sind schliesslich das einzige Überbleibsel der auf früheren Stadien allgemeinen Peritonealepithelverdickung. Freilich wächst späterhin das Epithel zu einer bedeutenderen Dicke heran als sie vorher bestanden hatte.

Danach sind also die Geschlechtszellen nicht als Abkömmlinge der Keimepithelzellen anzusehen, unter denen sie späterhin gefunden werden. Sie sind vielmehr Zellen eigener Art, die sexuell noch indifferent bereits lange vor Differenzierung der Keimdrüse vorhanden sind; und zwar treten sie beim Menschen und Kaninchen auf dem Stadium der Keimblätterbildung im Entoderm auf, um dann nach Schluss desselben zum Darmrohre durch das Mesenterium in die Keimregion medial der Urniere einzuwandern. (Mensch, Kaninchen, Schwein.) Diese Einwanderung ist für den Menschen erst spät — nach der 4. Woche —, für das Kaninchen nach 13 Tagen und beim Schwein mit 14 mm beendet. Erst nach diesem Termine beginnt die Bildung der Geschlechtsdrüse. Die Fortbewegung der Geschlechtszellen geschieht teils aktiv (amöboid), teils passiv (mit dem Gewebe ihrer Umgebung), ihre Vermehrung, soweit bis jetzt bekannt, mitotisch.

So schliessen sich die hier beschriebenen den allgemeinen Verhältnissen bei den Säugern an.

Eine angenehme Pflicht erfülle ich noch, indem ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Nussbaum, für die Anregung und Förderung dieser Arbeit herzlichst danke. Ferner möchte ich auch Herrn Dr. Cramer für Überlassung der menschlichen Embryonen an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis.

1. Allen, B. M.: The Embryonic Developement of the Ovary and Testis of the Mammals. Americ. Journal of Anatomy, Vol. III, June 1904.
2. Derselbe: A Statistical Study of the Sex Cells of Chrysemys marginata. Anat. Anz., XXX. Bd., 1907.
3. Derselbe: The Origin of the Sex Cells of Amia and Lepidosteus. Journal of Morphology, Vol. 22, 1, 1911.
4. Balbiani, E. G.: Contribution à l'étude de la formation des organes sexuels chez les insectes. Recueil zoologique, Suisse 1885.
5. Beard, John: The Morphological Continuity of the Germ-Cells in Raja batis. Anat. Anz., XVIII. Bd., 1900.
6. Derselbe: The Numerical Law of the Germ-Cells. Anat. Anz., XXI. Bd., 1902.
7. Derselbe: The Germ-Cells. Journ. of Anat. and Physiol., Vol. XXXVIII, 1903—1904.
8. Bornhaupt: Dissertation, Riga 1867.
9. Borsenkow: Würzburger naturw. Zeitschrift, 1863.

9a. Boveri: Entwicklung von Ascaris megalocephala. Festschr. Kupffer, 1899.

10. Egli, Th.: Zur Entwicklung des Urogenitalsystems beim Kaninchen. Inaug.-Dissertation, Zürich 1876.
11. Eigenmann, C. H.: On the Precocious Segregation of the Sex-Cells of Micrometrus aggregatus. Journ. of Morphology, Vol. V, 1891.
12. Derselbe: Sex-Differentiation in the viviparous teleost Cymatogaster. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 4, 1896.
13. Fedorow, V.: Über die Wanderung der Genitalzellen bei Salmo fario. Anat. Anz., XXXI. Bd., 1907.
14. Felix und Bühler: Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere, 1907 (Hertwig).
15. Mihálkovicz, V.: Untersuchungen über die Entwicklung des Harn- und Geschlechtsapparates der Amnioten. Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Histol., 1885, Bd. 2.
16. Minot, S.: Gegen das Gonotom. Anat. Anz., 1894.
17. Nagel, W.: Über das Vorkommen von Primordialeiern ausserhalb der Keimdrüsenanlage beim Menschen. Anat. Anz., V. Bd., 1889.
18. Nussbaum, M.: Zur Differenzierung des Geschlechts im Tierreich. Arch. f. mikr. Anat., 1880.
19. Derselbe: Zur Entwicklung des Geschlechts beim Huhn. Abdruck a. d. Verhandl. d. Anat. Gesellsch., 1901.
20. Derselbe: Zur Entwicklung des Urogenitalsystems beim Huhn. Comptes rendus de l'association des anatomistes, Ve session, Liège 1903.
21. Paladino, G. nach Bühler: Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere, 1907 (Hertwig).
22. Pedaschenko, D.: Embryonalentwicklung und Metamorphose von Lernaea branchialis L. Traveaux de la Société Impériale des Naturalistes de St. Petersbourg, Vol. XXVI, Livr. 4.

23. Rubaschkin, W.: Über das erste Auftreten und Migration der Keimzellen bei Vögelembryonen. Anat. Hefte, Bd. 35, 1907.
24. Derselbe: Über die Urgeschlechtszellen bei Säugetieren. Anat. Hefte, Bd. 39, 1909.
25. Skrobansky: Beiträge zur Kenntnis der Oogenese bei Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 62, 1903.
26. Waldeyer, W.: Eierstock und Ei. Leipzig, Engelmann, 1870.
27 Derselbe: Geschlechtszellen. Handb. d. vergl. u. exper. Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere, 1907 (Hertwig).
28. v. Winiwarter, H. et Sainmont, G.: Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des mammifères (chat). Archives de Biologie, 1909, XXIV.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I und II.

Sämtliche Figuren wurden mit dem Prisma bei Seibert, Apochromat 2 mm, Compensationsocular 8 entworfen und sodann leicht schematisch ausgezeichnet.

A a = Aorta abdominalis.
D = Darm.
En = Entoblast.
G = Geschlechtszelle
K = Keimwall.
v P = viscerales Peritoneum.

Tafel I.

Fig. 1. Drei Geschlechtszellen im Entoblast eines menschlichen Embryos von ungefähr 2 Wochen.

Fig. 2. Vier Geschlechtszellen in Darm und Mesenterium bei einem menschlichen Embryo von ungefähr 3 Wochen.

Fig. 3. Drei Geschlechtszellen in und neben dem Darmepithel bei einem Schweineembryo von 7 mm grösster Länge.

Tafel II.

Fig. 4. Sechs Geschlechtszellen in der Gekrösewurzel bei einem menschlichen Embryo von 4 Wochen.

Fig. 5. Fünf Geschlechtszellen in Mesenterium und Geschlechtsdrüsenanlage bei einem Schweineembryo von 10 mm grösster Länge.

Fig. 6. Fünf Geschlechtszellen an der Geschlechtsdrüsenanlage bei einem Schweineembryo von 14 mm grösster Länge.

Aus dem anatomischen Institut der Universität Freiburg i. B.

Die Urgeschlechtszellen des Hühnerembryos am 3. und 4. Bebrütungstage, mit besonderer Berücksichtigung der Kern- und Plasmastrukturen.

Von

Dr. Herbert von Berenberg-Gossler.

Hierzu Tafel III.

Inhalt.

I. Einleitung und Fragestellung.

Der Gedanke, dass sich die Geschlechtszellen schon während der frühesten Stadien der Ontogenese von den Körperzellen absondern und während der Entwicklung ein verhältnismässig selbständiges Dasein führen, rührt ursprünglich von M. Nussbaum (67) her. Er fasst seine Untersuchungsergebnisse folgendermassen zusammen: „Samen und Ei stammen nicht von dem Zellenmaterial des elterlichen Organismus ab, sondern haben mit ihm gleichen Ursprung“.

Durch die bekannten Schriften Weismanns, in denen er die Lehre von der Kontinuität des Keimplasmas aufstellte, wurde dann die allgemeine Aufmerksamkeit auf dieses grosse Problem gelenkt.

Nachdem es Weismann selber und anderen gelungen war, mit ziemlicher Sicherheit nachzuweisen, dass die „Polzellen“

mancher Insekten, welche sich schon während der ersten Furchungsstadien abheben, die Stammzellen der Geschlechtsorgane darstellen, und auch sonst verschiedentlich Beobachtungen gemacht waren, welche für eine sehr frühe Sonderung der Geschlechtszellen bei einigen Gruppen sprachen, war doch Boveri der erste, welcher den sicheren Nachweis erbrachte, dass es Tiere gibt, bei welchen sich die Stammzellen der Geschlechtsorgane bis zur ersten Furchung zurückverfolgen lassen.

Ich möchte gleich hier bemerken, dass ich in den folgenden Ausführungen das Wort Keimbahn lediglich für die Generationskette der morphologisch erkennbaren Zellen gebrauchen werde, welche die Geschlechtszellen mit den ersten Furchungszellen verbinden. Auf die Frage, ob sich diese Zellen in bezug auf ihre erblichen Qualitäten von den Somazellen prinzipiell unterscheiden, ob es also eine Keimbahn im allgemeinen Sinne gibt, wie dies Weismann annimmt, kann ich mich hier nicht näher einlassen.

Die wichtige Entdeckung einer Keimbahn bei Ascaris megalocephala zog dann eine grosse Reihe von Untersuchungen nach sich, aus welchen sich aber ein allgemein gültiges Prinzip für die ganze Tierreihe keineswegs ableiten lässt.

Im Reiche der Wirbellosen wurde bei Anneliden, Echinodermen und Mollusken eine Keimbahn nicht gefunden (Buchner [22]).

Das ganze Problem, wie es in dem oben zitierten Ausspruch von Nussbaum zusammengefasst ist, nämlich, anders ausgedrückt, „ob mit kurzen Worten jedes Metazoen- und Metaphyten-Individuum eine Art Doppelwesen ist, in welchem die Geschlechtszellen allein die Kontinuitätskette mit den Ahnen herstellen und für die Zukunft aufrecht erhalten, während den einzelnen Kettengliedern die Leiber der Individuen gleichsam aufgepfropft sind" (Waldeyer [95]) steht und fällt mit der Frage, ob zweifellose Körperzellen sich zu Geschlechtszellen umbilden können. Falls der geistreiche Gedanke, den Nussbaum schon 1880 äusserte, zu Recht besteht, haben wir es hier mit einem allgemeinen biologischen Prinzip zu tun, welches für die Auffassung des Körpers der Tiere sowohl, wie der Pflanzen, von einschneidender Bedeutung ist. Erweist sich der Satz als unrichtig, so wird das Problem in seiner Bedeutung viel spezieller. Es bezieht sich dann eben nur auf Fragen, welche für die Differenzierung der

Gewebe im Embryo von Bedeutung sind, deren Beantwortung bei einem Tiere aber sicher nicht eine Verallgemeinerung auf alle Tierkreise zulässt.

Es hat immer mehr den Anschein, als könne eine Umwandlung von charakteristischen Körperzellen in Geschlechtszellen vorkommen. Wie unter anderem Fick (33) hervorhebt, kann man nach dem heutigen Stande der Forschung von einer Keimbahn bei Pflanzen nicht reden. Was die Tiere anbetrifft, so ist ein Untersuchungsergebnis von Child (23) geeignet, Aufsehen zu erregen. Er behauptet, nachgewiesen zu haben, dass bei Monieza, einem Wurme, sich Hodengewebe aus deutlich differenzierten Muskelzellen bilden.

Bei den Wirbeltieren wird nur von sehr wenigen Forschern das Bestehen einer Keimbahn angenommen, dagegen mehren sich von Jahr zu Jahr die Beobachtungen, dass die Stammzellen der Geschlechtszellen sich schon früh absondern und genetisch unabhängig von den Keimblättern sind.

Lange Zeit hindurch war ja die von Waldeyer (94) aufgestellte, von Semper (88) dann weiter ausgedehnte Lehre, wonach die Keimzellen aus einem bestimmten Bezirk des Cölomepithels, dem Keimepithel, ihren Ursprung nehmen, die allein herrschende. Dann tauchten immer mehr Angaben auf, dass diese Stammzellen „extraregionär“, d. h. an anderen Orten des Embryos entständen, und erst allmählich, durch aktive Wanderung oder passive Verschiebung, in den Genitalbezirk gelangten.

Die augenblicklich herrschende Anschauung, welcher Felix im Handbuch von O. Hertwig Ausdruck gibt, und die neuerdings auch Kuschakewitsch (56) und viele andere vertreten, kann man dahin zusammenfassen, dass man primäre Urgeschlechtszellen, welche extraregionär und unabhängig von den Keimblättern entstehen, von sekundären, welche aus dem eigentlichen Keimepithel hervorgehen, unterscheidet.

Vielleicht ist es nützlich, bei dieser Gelegenheit die Literaturangaben kurz aufzuzählen, nach welchen eine extraregionäre Entstehung vorkommt.

Balfour (7) hatte schon 1878 diese Möglichkeit bei Selachiern behauptet. Eigenmann (28, 29) hat die Urgeschlechtszellen bei einem Teleostier am weitesten zurückverfolgt, und zwar bis zur fünften Generation der Furchungszellen. Die

Entstehung ausserhalb des Keimepithels wurde dann festgestellt: von Wheeler (98) für Petromyzonten, von Beard (9, 10, 11, 12) und Woods (101) für Selachier, von Allen (4) für Ganoiden, von Fedorow (630) für Teleostier, von Nussbaum (67), Allen (3), King (53) und Schapitz (87) für Amphibien, von Allen (2) und Jarvis (51) für Reptilien,[1]) von Hoffmann (50), Nussbaum (68), Rubaschkin (83) und Tschaschin (92) für Vögel, von Rubaschkin (84, 85) für Säuger und endlich von Fuss (35) für den Menschen. Für das Bestehen einer Keimbahn sprechen sich eigentlich nur ganz klar aus: Nussbaum, Beard und Allen.

Nun wird das ganze Problem dadurch ausserordentlich erschwert, dass die Entstehung der Geschlechtszellen aus den bekannten charakteristischen „Urgeschlechtszellen" gar nicht von allen Forschern als sicher bewiesen betrachtet wird. Schon 1885 äussert Mihálkovics (65), „der erste Schub von grossen Zellen" liefere keine Keimelemente, sondern werde anderweitig verbraucht.

Ähnliche Zweifel äusserte Minot (66). Er betrachtet die „Ureier" lediglich als vergrösserte Zellen, bringt ihre Grösse zum Teil mit den Vorbereitungen zur Zellteilung in Zusammenhang. Jedenfalls warnt er davor, sie ohne weiteres als Vorstufen der Keimelemente anzusprechen.

Winiwarter und Sainmont (100) sehen die Urgeschlechtszellen der Säuger noch 1908 als hypertrophische Zellen an, welche ein ephemeres Dasein fristen.

Die Warnungen derartiger Kenner mahnen zur Vorsicht und ergeben die Notwendigkeit, die Frage nach der Kontinuität zwischen Urgeschlechtszellen und Keimelementen, und andererseits nach der ersten Entstehung der Urgeschlechtszellen, in diesem Sinne zu bearbeiten. Die Anregung hierzu verdanke ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Keibel, welchem ich hierfür. sowie für stets gewährten Rat und Unterstützung, meinen herzlichsten Dank ausspreche. Bei dieser Gelegenheit möchte ich nicht versäumen, auch Herrn Prof. Benda ergebenst für seine mannigfachen Anregungen und technischen Unterweisungen, mit welchen er mich, während ich in seinem Laboratorium

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Ich möchte hier eine jüngst erschienene Arbeit von A. P. Dustin (Arch. Biol., T. 25, 1911) nicht unerwähnt lassen, nach welcher die Keimdrüsen von Chrysemis zuerst im Entoderm auftreten.

arbeiten durfte, stets unterstützte, zu danken. Meinem verehrten Chef, Herrn Geh. Rat Wiedersheim, bin ich sehr dankbar für sein Interesse an der Arbeit und seine Unterstützung mit einschlägiger Literatur.

Als Untersuchungsobjekt wählte ich Hühnerembryonen, wegen der bequemen Beschaffungsmöglichkeit des Materials, von dem ich wegen mannigfacher technischer Schwierigkeiten sehr viel brauchte. Gelegentlich wurden Entenembryonen von entsprechendem Entwicklungsgrad mitbenutzt.

Zunächst suchte ich dem Mangel in der Literatur an genauen, systematischen Angaben über den feineren Bau der Urgeschlechtszellen dadurch abzuhelfen, dass ich ein Zellorgan nach dem anderen mit den Hilfsmitteln der modernen Technik durcharbeitete. Die cytologischen Untersuchungen sollten also eigentlich nur Vorarbeiten sein. Dabei erwies sich die Urgeschlechtszelle aber als ein geradezu ideales Objekt, um eine Reihe cytologischer Fragen von allgemeiner Bedeutung daran zu prüfen.

Zunächst sind diese Zellen, wenigstens während der Periode, in welcher ich sie untersuchte, ausserordentlich voluminös. Man kann zweifellos sagen, dass sie während dieser Zeit die bei weitem grössten Zellen des Embryos sind. Dann kommen aber noch zwei wichtige Punkte hinzu, die sie als Untersuchungsobjekt besonders geeignet machen. Sie haben am 3. und 4. Tage der Bebrütung wahrscheinlich keine Funktion, und sie treten in der Regel nicht in Teilung.

Letztere von vielen Autoren für die Urgeschlechtszellen angegebene Eigenschaft, die auch Rubaschkin bei Vogelembryonen hervorhebt, kann ich bestätigen. Man trifft eine Mitose einer Urgeschlechtszelle, welche infolge ihrer Grösse in hohem Grade ins Auge springt, am 3. und 4. Tage nur ausnahmsweise an.

Da diese Zellen wohl so gut wie funktionslos sind, was auch daraus hervorgeht, dass am 3. und 4. Tage keinerlei Veränderungen an ihnen zu konstatieren sind, und während verhältnismässig langer Zeit sich nicht teilen, muss man annehmen, dass der Zellstoffwechsel ein träger ist. Dies macht die Zelle besonders für die Untersuchung des Kerns und der Plasmadifferenzierungen geeignet, zumal die Erforschung dieser Gebilde in jungen Embryonalzellen, abgesehen von den Mitochondrien, überhaupt noch im argen liegt.

II. Material und Technik.

Zur Verwendung kamen Embryonen in einem Alter, in dem die Urgeschlechtszellen leicht zu erkennen sind, in dem ihre „Wanderung“ aber noch nicht zu Ende gekommen ist, also solche von der Mitte des 3. bis zur zweiten Hälfte des 4. Tages. Die Ursegmentzahl des jüngsten betrug etwa 28 Somiten.

Die Art der Fixierung wurde je nach den Zellteilen, auf die es besonders ankam, ausgewählt: Zenker-Formol, Sublimat (frisch angesetzte 4 proz. wässerige Lösung), Sublimat-Eisessig, Flemmingsche Lösung in der Modifikation und Anwendung nach Benda, und Hermannsche Flüssigkeit mit Beschränkung des Eisessigzusatzes. (Auf 15 Teile Platinchloridlösung und vier Teile Osmiumsäurelösung (2%) nur drei Tropfen Eisessig.)

Die Arsensilberimprägnation, deren Rezept Golgi (1908) veröffentlichte, und die auch Riquier (81) genau angibt, wurde zur Darstellung des inneren Netzapparates benutzt und gab prachtvolle Resultate, wenn die Dauer der Fixierung 6—8 Stunden betrug, was auch Golgi als Optimum angibt. Dagegen fand ich, dass der Aufenthalt in der Silbernitratlösung nicht kürzer als etwa 18 Stunden dauern darf. Bei der Entwicklung macht es nach meinen Erfahrungen einen grossen Unterschied, ob man Natrium sulfurosum crystallisatum oder siccum anwendet. Ich fand, dass bei Gebrauch des letzteren die Resultate konstanter sind und der Entwickler besser auf tiefer gelegene Teile wirkt. Wie bei allen Metallimprägnationen, sind natürlich auch bei dieser Methode die Ergebnisse nicht immer überall gleich sauber.

Eingebettet wurden die Embryonen, soweit sie mit Flemmingscher Lösung fixiert waren, und soweit sie nach Ehrlich-Biondi gefärbt werden sollten, in Paraffin, erstere nach Durchtränkung mit Zedernöl, was bei der schlechten Schneidbarkeit derartig behandelter Objekte die besten Resultate gab. Letztere wurden äusserst langsam und schonend vom absoluten Alkohol in Chloroform übergeführt, diesem dann Stücke Weichparaffin zugesetzt. Ich liess dann das Chloroform im Trockenschrank verdunsten, worauf die kurze Durchtränkung mit Paraffin von höherem Schmelzpunkt erfolgte.

Sonst wandte ich nur Einbettung in Celloidin, wie sie Dantschakoff (24) angibt, und die kombinierte Celloidin-Paraffinmethode nach Jordan an, wie sie in der Enzyklopädie

der mikroskopischen Technik, letzte Auflage, angegeben wird. Die in Celloidin-Zedernöl eingebetteten Objekte wurden über Chloroform-Zedernöl und reines Chloroform in Paraffin übertragen.

Das Schneiden der in reinem Celloidin eingebetteten Stücke ist natürlich ausserordentlich mühsam, eine ganz lückenlose Serie durch einen Embryo wird damit wohl kaum jemandem gelingen, die Resultate sind aber dafür sehr gute. Am meisten ist die Celloidin-Paraffinmethode für Embryonen zu empfehlen, wenn es einem darauf ankommt, keine Schnitte zu verlieren. Schrumpfung ist, wenn überhaupt vorhanden, nur ganz minimal. Es empfiehlt sich, die mit Eiweiss-Glyzerin aufgeklebten Stücke nach der Streckung mit einem sauberen Objektträger fest aufzudrücken, da sie sonst in der Regel nicht ganz glatt werden. Es lassen sich nach dieser Methode bequem Bänder in jeder gewünschten Dicke schneiden, da im Schnitt das beinahe glasklare Celloidin von einem Paraffinrand umgeben ist. Besonders Embryonen, welche 6 Tage in Hermannscher Flüssigkeit fixiert waren, ergaben mit dieser Einbettungsart ausserordentlich schöne Bilder. Die Schnittdicke betrug bei allen Methoden $4-7\,^1/_2\ \mu$.

Gefärbt wurde mit Hämatoxylin nach Delafield, mit Eisenalaun-Hämatoxylin, bei Mitochondriendarstellung nach vorhergegangener Bleichung nach Pal, was Rubaschkin (85) mit Recht empfiehlt, ferner mit Azur-Eosin, Safranin-Lichtgrün, Methylgrün-Pyronin und mit Ehrlich-Biondischem Gemisch. So schön die Resultate mit dem letzteren waren, so sehr liess die Haltbarkeit der Färbung zu wünschen übrig.

Für die Darstellung der Mitochondria wurde vor allem mit Eisenalizarin-Kristallviolett nach Benda gefärbt.

Die Schnitte der nach Golgi mit Arsensilber imprägnierten Embryonen endlich wurden nach Veratti (siehe Golgi [39]) vergoldet und gebleicht und mit Karmalaun nach einem Rezept, welches R. Krause in seinem vortrefflichen „Kursus der normalen Histologie“ gibt, nachgefärbt.

III. Die Beziehungen der Urgeschlechtszellen zu den benachbarten Geweben.

In den folgenden Untersuchungen wurden nur solche Zellen berücksichtigt, welche ohne jeden Zweifel Urgeschlechtszellen waren. Ich benutze diesen letzteren Namen, da er der allgemein

landläufige ist, ohne damit behaupten zu wollen, dass der Nachweis der Kontinuität mit den Ei- und Samenzellen bisher einwandfrei erbracht ist.

Eine Urgeschlechtszelle ist während der hier berücksichtigten Embryonalperiode sehr leicht zu erkennen durch die Grösse des Zelleibes und die entsprechende Grösse des Kernes. Die Unterscheidung unzweifelhafter Urgeschlechtszellen von anderen Gewebszellen hat mir in diesem Entwicklungsstadium nie Schwierigkeiten bereitet, die Lage im Gewebe und vor allem die Eigenarten des Baues, von denen weiter unten die Rede sein wird, lassen sie, wenigstens in guten Präparaten, leicht erkennen. Es kommt dann nur bei Anwendung gewisser Techniken vor, dass man zweifelhaft ist, ob man es wirklich mit einer Urgeschlechtszelle zu tun hat.

Wie ich vorher erwähnte, zweifelt Minot (66) bei Selachiern die spezifische Natur der als „Ureier" beschriebenen Zellen an und bringt ihre Grösse mit Vorbereitung zur Teilung in Zusammenhang. Ich glaube, dass dies letztere beim Hühnerembryo nicht in Betracht kommen kann, denn eine der ungemein seltenen Mitosen einer Urgeschlechtszelle ist in der Regel von so auffallender Grösse, dass sie mit den Teilungsfiguren einer anderen Zellart nicht zu verwechseln ist. Genauere Maße von Urgeschlechtszellen ergeben sich aus der Tafel. Dort ist den Figuren ein Maßstab beigefügt, welcher genau in der gleichen Vergrösserung eingezeichnet wurde. Der Abstand zwischen zwei Teilstrichen entspricht einem Mikron.

Ich möchte besonders hervorheben, dass die Einzelheiten im Bau sich während der hier berücksichtigten Bebrütungszeit nicht ändern, die Urgeschlechtszellen von der Mitte des 3. bis zur zweiten Hälfte des 4. Tages bieten cytologisch stets das gleiche Bild.

Was ihre Lage im Embryo während dieser Periode betrifft, so kann ich die Angaben von Rubaschkin (83) im allgemeinen bestätigen. In der Mitte des 3. Tages liegen sie fast alle in der Visceralplatte des Mesoderms, am Anfang des 4. Tages findet man die Mehrzahl in der Gegend des Cölomwinkels, wo das viscerale Blatt des Mesoderms in das parietale übergeht, sowie medial vom Wolffschen Körper, nur wenige befinden sich dann noch im visceralen Blatt. Am Ende des 4. Tages hat die grosse

Mehrzahl die Genitalregion erreicht. Die kraniale Grenze ihrer Ausbreitung entspricht etwa der Einmündung der Arteriae omphalomesentericae in die Aorta. Noch weiter kranialwärts trifft man sie nur äusserst spärlich an.

Mir ist besonders aufgefallen, dass die Urgeschlechtszellen vielfach in kleinen Gruppen oder Nestern auftreten. In Querschnittserien wechseln vielfach Schnitte mit ganzen Gruppen von Urgeschlechtszellen mit solchen ab, in denen sie nur spärlich vertreten sind. Auch in Sagittalserien findet man entsprechende Bilder. Ich möchte diesem Befund einstweilen noch keine grössere Bedeutung beimessen, da der Stand unseres Wissens noch lange nicht erlaubt, eine metamere Entstehung zu behaupten.

Die in der Visceralplatte des Mesoderms liegenden Urgeschlechtszellen grenzen, wenn Fixierung und Einbettung gut sind, nie direkt an das Cölom an. Sie sind von den langgestreckten Cölomepithelzellen eng umschlossen und überlagert. Diese sind zum Teil über die Zelleiber der Urgeschlechtszellen hinübergebogen, so dass ihre an das Cölom angrenzenden Enden zusammenschliessen und erstere vom Cölom trennen. So kommt es, dass man auf Schnitten in der Regel zwischen Urgeschlechtszellen und Cölom die abgeschnittenen Enden von Epithelzellen findet (vergl. Fig. 1).

Es ist bekannt, dass diese rundliche Kuppen am Ende besitzen. Heidenhain und Cohn (44) halten dieselben für ein Kunstprodukt, erklären, dass dadurch die Centralkörperchen, welche in oder an der Grenze der Kuppe liegen, aus ihrer natürlichen Lage gebracht seien und infolgedessen nicht immer dem Spannungsgesetze Heidenhains zu gehorchen schienen. Ich kann mich dieser Ansicht nicht anschliessen, vielmehr halte ich glatte Konturen der Epitheloberfläche für artificiell, denn gerade in den am besten fixierten und in Celloidin oder Celloidin-Paraffin eingebetteten Präparaten treten die Kuppen am schönsten hervor. Ich verweise hierzu auf Fig. 1, welche einen genau gezeichneten Schnitt durch die Visceralplatte eines mit modifizierter Hermannscher Flüssigkeit fixierten und in Celloidin-Paraffin eingebetteten Embryos darstellt.

Bei dieser Fixierung treten die von Heidenhain und Cohn (44) bereits abgebildeten Schlussleisten bei Eisenhämatoxylinfärbung besonders schön hervor. Es ist überhaupt erstaunlich,

wie weitgehend differenziert ein Oberflächenepithel bei einem Embryo von der Mitte des 3. Bebrütungstages schon ist.

Die Urgeschlechtszellen haben eine rundliche oder ellipsoide, resp. eiförmige Gestalt. Morphologische Anzeichen von amöboider Beweglichkeit, wie sie Rubaschkin bei Vögeln und Säugern, Beard und andere bei Selachiern annehmen, habe ich nicht konstatieren können. Wenn der Zelleib gelegentlich eine Ausbuchtung zeigt, so rührt dies meiner Ansicht nach stets daher, dass benachbarte Zellen einen Teil des Zellkörpers zusammenpressen. Man begegnet zuweilen Bildern, wo benachbarte Zellen geradezu als Hüllzellen erscheinen.

Überhaupt macht die Visceralplatte mitsamt den darin liegenden Urgeschlechtszellen zu sehr den Eindruck eines geschlossenen Ganzen, als dass man aktive Vorwärtsbewegung derartig grosser Zellen sich darin vorstellen könnte.

Die Frage der amöboiden Beweglichkeit halte ich für einen wichtigen Punkt, da eine derartige Eigenschaft für eine grosse Selbständigkeit der Urgeschlechtszellen gegenüber den Keimblättern sprechen würde. Bei den Geschlechtszellen einiger Wirbelloser, vor allem der Cölenteraten, ist sie ja seit langem bekannt.

Ich bin der Meinung, dass die Urgeschlechtszellen des Huhnes nicht amöboid beweglich sind und schliesse mich der Ansicht von Nussbaum (68) an, nach welcher ihre Einschleppung in die Genitalregion zusammenhängt mit der Verschiebung ganzer Gewebskomplexe der Splanchnopleura, verursacht durch den Schluss der Darmrinne und die Bildung des Mesenteriums. Ich möchte bei dieser Gelegenheit auf das interessante und noch unaufgeklärte Problem der Verschiebung der Keimblätter gegeneinander während der ersten Entwicklungsprozesse hinweisen. Ein grosser Teil der Visceralplatte scheint mir allmählich um den Cölomwinkel herumzurücken, was man an der Lage der Urgeschlechtszellen, welche man bei diesem Verschiebungsprozess als Markiersteine betrachten kann, erkennt.

Hierbei scheinen hin und wieder Urgeschlechtszellen passiv in die tiefer liegenden Partien des Mesenchyms geschoben zu werden, von wo sie später bis in die Retroperitonealregion vor der Aorta gelangen können. Ich glaube also nicht, dass die Lage in der Tiefe des Mesenteriums und vor der Aorta eine Etappe der Wanderung ist, die Rubaschkin annimmt, sondern viel-

mehr, dass die Urgeschlechtszellen, soweit sie vereinzelt in der Tiefe des Gewebes liegen bleiben und nicht wieder durch Wachstums- und Verschiebungsprozesse der umliegenden Zellkomplexe in das Epithel zurückgeschoben werden, zugrunde gehen.

Sie können dann gelegentlich zu geradezu abenteuerlicher Grösse heranwachsen. Ich verweise hier auf Fig. 16, welche eine Zelle darstellt, die retroperitoneal direkt an der Aorta lag. Es handelt sich vermutlich bei diesem Degenerationsprozess um pathologisches Kernwachstum, wie man es u. a. bei Infusorien während der Depression vielfach beobachtet hat. Ich ziehe die Protozoen zum Vergleich heran, da wir es bei den Urgeschlechtszellen mit Zellen zu tun haben, welche ausserordentlich unabhängig vom umliegenden Gewebe sind. Die pathologische Grösse des Kernes scheint gelegentlich mehrfach aufeinanderfolgende Zellteilungen zu verursachen, denn bei etwas älteren Embryonen traf ich gelegentlich kleine Nester von unzweifelhaften Urgeschlechtszellen im Mesenterium und vor der Aorta an. Ich möchte hier kurz an die Theorie von Beard erinnern, welche die Entstehung von Teratomen mit verschleppten Urgeschlechtszellen in Verbindung bringt, ohne aber für sie einzutreten.

Dass Urgeschlechtszellen in grosser Zahl zugrunde gehen, wird von Beard und manchen anderen behauptet. Wir hätten es dann hier mit einem der in der Literatur vernachlässigten, normalen Involutionsprozesse während des frühen embryonalen Lebens zu tun.

IV. Der feinere Bau der Urgeschlechtszelle.

A. Der Kern.

Bei der heutzutage so vielfach verbreiteten Ansicht, dass allein der Kern der Träger der Vererbung sei, — ich nenne hier nur die Namen Weismann und O. Hertwig — könnte es einen fast Wunder nehmen, wie wenig, und, mit einigen Ausnahmen, mit wie geringem Erfolge, bisher der Kern der Keimbahnzellen untersucht worden ist. Besonders auffallend ist dies, wenn wir an die fast unübersehbare Literatur denken, welche dieses Problem in der Erforschung der Spermio- und Ovogenese gezeitigt hat.

Der erste und berühmteste Erfolg in dieser Richtung war die Entdeckung der Chromatindiminution durch Boveri (19, 21),

welche ein schlagender Beweis für die Weismannsche Keimplasmatheorie zu sein schien.

Diesem aufsehenerregenden Befunde folgte aber die Enttäuschung auf dem Fusse, als man fand, dass die Chromatindiminution kein allgemein gültiges Prinzip darstellt, sondern dass sie in ähnlicher Form nur noch bei einigen anderen Nematoden vorkommt. Ausserdem entdeckte Giardina in der Ovogenese von Dyticus Chromatinverhältnisse, welche man mit Boveris Befunden in Verbindung bringen kann. In neuerer Zeit behauptete dann noch Kahle (52), dass bei Cecidomyia nur die Urgeschlechtszellen das volle Chromosomenmaterial besässen.

Dieses eigenartige Verhalten der chromatischen Substanz wird von den Autoren in verschiedener Weise erklärt. Die Chromosomenenden bei Ascaris, welche in den Somazellen abgestossen und im Plasma aufgelöst werden, in den Keimbahnzellen dagegen erhalten bleiben, sollen nach Boveri aus „Geschlechtschromatin" bestehen. Nach Goldschmidt (36) dagegen aus „Trophochromatin". Ebenso soll der Giardinasche Ring bei Dyticus nach Goldschmidt einem „somatischen Kern" entsprechen, welcher nachher mit der starken Dotterbildung in Beziehung stehen soll. Hier taucht also — das möchte ich hervorheben — die Idee auf, die besondere Konfiguration der chromatischen Substanz in den Keimbahnzellen mit den besonderen Stoffwechselverhältnissen, welche in diesen statthaben müssen, in Verbindung zu bringen. Dieser Punkt kommt, wie ich jetzt schon vorwegnehmen möchte, für die Chromatinverhältnisse, die man in den Urgeschlechtszellen des Huhnes findet, in Betracht.

Auch in den Keimbahnzellen von Cyclops beschreibt Haecker (41, 42) ein eigenartiges Verhalten des Chromatins, welches neuerdings von Haeckers Schüler Amma (5) bestätigt wurde: die chromatische Substanz ist innerhalb der Kernmembran in Form von zwei Knäueln angeordnet. Die Kerne überdauern in diesem Zustande das Nauplius- und Larvenstadium, bis aus den Urkeimzellen die Gonade entsteht.

Diesen Befund führt Haecker zugunsten der auf van Beneden fussenden, später besonders auch von Rückert (86) formulierten Lehre von dem Getrenntbleiben der väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz zurück. Die „Gonomerie" kommt auch in den jungen Furchungszellen von Cyclops in der zwei-

teiligen Beschaffenheit der Kerne zum Ausdruck (Rückert [86]), (Haecker [41, 42]).

Fick (33), der bekanntlich allen derartig weittragenden Deutungen mit äusserster Skepsis gegenübersteht, erklärt das Verhalten der Furchungskerne als bedingt durch unharmonische Funktion dieser Gebilde, welche noch an der Entstehung aus zwei Kernen „leiden". Über die Gonomerie in den Urkeimzellen äussert er sich nicht näher. Der Gedanke von Haecker, dass die Gonomerie auch in dem symmetrischen Auftreten von zwei Nukleolen zum Ausdruck komme, wird gelegentlich von O. Hertwig (49, S. 319) zurückgewiesen.

Bei den Urgeschlechtszellen der Wirbeltiere wurde der Kern bisher eigentlich kaum zur Rückverfolgung der Urgeschlechtszellen benutzt, da keiner der Autoren prinzipielle Unterschiede von denjenigen der Körperzellen fand, mit Ausnahme von Beard, der Kerne der Urkeimzellen gewisser Selachier in jungen Stadien an ihrer „Zwillingsform" erkennt (12).

Rubaschkin (83) beschreibt die Urgeschlechtskerne beim Hühnerembryo als gross und blasenförmig. Sie sollen ein oder mehrere Kernkörperchen besitzen, von denen dünne Achromatinfäden, mit kleinen Chromatinkörnern besät, zur Peripherie strahlen.

Ich schildere zunächst das Bild, das uns nach Färbung mit Eisenhämatoxylin und mit basischen Farbstoffen entgegentritt, werde es dann mit entsprechenden Befunden anderer Autoren vergleichen und werde schliesslich über die Ergebnisse mit dem Ehrlich-Biondischen Gemisch berichten, zu dessen Benutzung mich vor allem die jüngst erschienenen, schönen Untersuchungen von G. Retzius (80) anregten.

In dem Kern einer mit Eisenhämatoxylin gefärbten Urgeschlechtszelle ist die färbbare Substanz meistens zu zwei unregelmässigen, schwarz gefärbten Massen zusammengeballt, von welchen dünne, bei genügender Differenzierung schwach graue, Gerüstfasern zu der deutlich hervortretenden Kernmembran strahlen. Auf diesen Gerüstfasern trifft man hin und wieder ein schwarzes Korn. Ich möchte hier gleich vorwegnehmen, dass ich die vorher erwähnten schwarzen Massen nicht für echte Nukleolen halte, sondern für das eigentliche Chromatin des Kernes. Echte Nukleolen kommen gelegentlich im Inneren dieser chromatischen Massen vor, wie die Färbung nach Ehrlich-Biondi ergibt, bilden

dann aber nur einen kleinen Teil von ihnen. Im Eisenhämatoxylinpräparat sind sie nicht zu erkennen.

Was mich zuerst zweifelhaft machte, ob die schwarz gefärbten Gebilde ganz aus Nukleolarsubstanz beständen, war ihre eigenartige Gestalt: die Umrisse sind ganz unregelmässig, nach allen Seiten hin ragen Zacken und Schleifen daraus hervor (vergl. Fig. 1, Uz 4). Ganz ausserordentlich häufig ist mit grösster Deutlichkeit zu erkennen, dass die ganze Masse aus zum Teil verklebten, kleinen Klumpen zusammengesetzt ist. Ich bitte, hierzu Fig. 1 (Uz 1 und 4) zu betrachten, welche genau mit dem Zeichenapparat entworfen wurde. Ich habe besonderen Wert darauf gelegt, die Kernformen aufs genaueste wiederzugeben.

Wir haben es hier mit „Nukleoles-noyaux" nach Carnoys Nomenklatur zu tun, wie sie häufig bei niederen Pflanzen und Tieren, z. B. bei Actinosphaerium vorkommen (Heidenhain [46]).

Die einzelnen Brocken, welche die schwarzen Massen zusammensetzen, spreche ich in der Hauptsache als Chromosomen an. Verhältnismässig häufig können sich diese im Kernraume verteilen, wie Fig. 2 und 3 zeigen. Um Vorbereitung zur Kernteilung kann es sich hier nicht handeln, die in Fig. 2 und 3 gezeichneten Bilder, sowie die vielen Übergangsstadien, die sie mit solchen, in denen das Chromatin zwei einheitliche Massen bildet, verbinden, sind im Verhältnis zu der grossen Seltenheit von Kernteilungsbildern viel zu häufig.

Wie verhalten sich nun dazu, vom gleichen Gesichtspunkt aus betrachtet, die umliegenden Mesodermzellen? Auch hierfür verweise ich auf Fig. 1. Der Embryo, von dem dieser Schnitt stammt, war 6 Tage lang mit der modifizierten Hermannschen Flüssigkeit behandelt worden. Wenn man die Differenzierung mit Eisenalaun weit genug treibt, erscheinen die Nukleolen der Mesodermzellen als mattgelblich gefärbte, ovale Gebilde mit glatter Oberfläche, welche mit einem schwarzen, an der Peripherie nicht immer ganz glatten Ring umgeben sind. Derartiges ist mir in den Urgeschlechtszellen nie zu Gesicht gekommen. Auch dort treten, wenn auch nicht immer, Nukleolen auf, wie die weiter unten zu besprechende Biondifärbung an anderen Embryonen ergibt, dieselben sind aber im Verhältnis zu den Chromatinmassen klein. In mit Safranin gefärbten Schnitten sind

die Nukleolen der Mesodermzellen leuchtend rot, während das Chromatin der Urgeschlechtszellen sich davon durch seine mattrote Tinktion abhebt. Dass echte Nukleolen von einer chromatischen Schale umgeben sein können, finde ich auch bei Heidenhain (46). Von dort liesse sich auch eine Erklärung hernehmen, woher es kommt, dass die Nukleolen der Mesodermzellen im Verhältnis zu der Kerngrösse so viel voluminöser sind, als in den Urgeschlechtszellen. Heidenhain setzt die Menge der Nukleolarsubstanz zum Wachstum und zur Assimilation des Kernes in Beziehung, welche nach der Mitose in diesem statthaben. Dabei soll bei Anreicherung des Kernes an phosphorhaltigen Gruppen Eiweiss frei werden, welches in der Hauptsache die Nukleolarsubstanz bildet. Man könnte die Grösse der Nukleolen der Mesodermzellen also einfach durch die an diesen stattfindenden häufigen Teilungen erklären. Die Kleinheit und Inkonstanz der Nukleolen in den Urgeschlechtszellen wäre dann eine der Eigenarten, welche von der Tatsache herrühren, dass sie in der Regel nicht in Teilung treten.

Wie kann man nun die Chromosomenerhaltung in diesem Falle erklären? Ich schliesse mich Fick an (33), welcher, als bekannter Gegner der Individualitätshypothese, doch der Ansicht ist, dass ausnahmsweise zwischen zwei aufeinanderfolgenden Teilungen die Chromosomen wirklich erhalten bleiben können, z. B. zwischen den beiden Reifungsteilungen der Geschlechtszellen. Er fährt dann fort: „Es ist nun aber gewiss logisch berechtigt, anzunehmen, dass in der Natur alle Übergänge zwischen der vollkommenen Permanenz und der vollkommenen Auflösung in ein wirkliches Ruhenetz vorkommen. Im einen Fall sind eben intensive, chemische und physikalische Umwandlungen der „chromatischen Substanz“ nötig, im anderen aber nicht“.

Mit Recht betont auch C. Rabl (79), dass wir zwischen dem Chromatin des „ruhenden“ Kernes und dem umliegenden Plasma rege Wechselwirkungen annehmen müssen, erwähnt bei der Gelegenheit auch einen Satz von Boveri (20), dass die Form, in welcher die chromatische Substanz während der Mitose auftritt, eigentlich ihre Ruheform ist.

Da die Urgeschlechtszellen des Hühnchens am 3. und 4. Bebrütungstage weder eine ausgesprochene Funktion zu haben scheinen, noch in der Regel in Teilung treten, wobei ja eine

starke Vermehrung des Chromatins eintreten müsste, dürfen wir annehmen, dass der in ihnen stattfindende Stoffwechsel, und damit auch die zwischen Kern und Plasma auftretenden Wechselwirkungen, von träger Natur sind. Dass diese nicht ganz sistieren, ergeben meiner Ansicht nach die Bilder, welche man mit der Biondifärbung erhält, wie ich weiter unten ausführen werde. Natürlich wird in den Zellen ein grosser Energievorrat aufgespeichert sein, denn nach dem 5. Tage kommt eine starke Teilungsfähigkeit zum Ausdruck. Ob diese Aufspeicherung bei der „Absonderung" der Urgeschlechtszellen bereits stattfindet, oder ob sie während der verhältnismässig langen Zeit, in welcher die Zellen unverändert sind, allmählich zustande kommt, wird sich mit einiger Wahrscheinlichkeit erst entscheiden lassen, wenn die cellulären Vorgänge, welche sich bei dieser „Absonderung" abspielen, genau erforscht sind.

Wir haben hier tatsächliche Erhaltung der Chromosomen vor uns, deren Möglichkeit selbst Fick (33), wie oben erwähnt, als Ausnahme zugibt, und für welche ich eine Erklärung durch Annahme träger Wechselbeziehungen zwischen Kern und Plasma gegeben zu haben glaube.

Ich bin der Ansicht, dass man auch die Kernbefunde, welche Haecker in den Keimbahnzellen von Cyclops erhob, eventuell in gleicher Weise würde deuten können. Denn auch bei diesen Zellen sistiert die Teilung lange Zeit. Unerklärlich bleibt mir nur das symmetrisch-doppelte Auftreten der chromatischen Substanz, welches auch in den Urkeimzellen des Huhnes in der Regel zum Ausdruck kommt. Wie ich bereits oben erwähnte, erklärt Haecker auch die Doppelzahl der Nukleolen in den somatischen Zellen aus seiner Gonomerielehre.

Auch die Kerne der Mesodermzellen des Hühnerembryos besitzen, wie es wohl bekannt sein dürfte, zum grossen Teil paarige Nukleolen, von denen jede von einer chromatischen Schale umgeben ist. Wenn wir die Grössenverhältnisse der Urgeschlechtszellen- und der Mesodermzellenkerne in Betracht ziehen, so ist der relative Unterschied gar kein so sehr grosser. Der Hauptunterschied liegt in der Anordnung des Chromatins. Die Kerne der somatischen Zellen teilen sich häufig, infolgedessen müssen die Wechselwirkungen mit dem Plasma, welche für das Wachstum der chromatischen Substanz als notwendig zu

erachten sind, besonders intensiv sein. Alles Chromatin wird dazu gebraucht, daher kann es nicht in Form von Chromosomen, also in „Ruheform“, auftreten.

Dass in den Urgeschlechtszellen nicht alles Chromatin in den Chromosomen angehäuft ist, ergibt sich vor allem aus Präparaten, welche nach Ehrlich-Biondi gefärbt sind. Bevor ich hierauf näher eingehe, möchte ich kurz auf eine Beobachtung von Born (18) hinweisen, welcher in der Ovogenese von Triton den bekannten Fadenknäuel beschreibt, aber dabei betont, nicht alle färbbare Substanz sei in den Fäden konzentriert. Also auch hier ein Beispiel für die Möglichkeit, dass physiologisch tätiges und untätiges Chromatin, äusserlich unterscheidbar, in demselben Kerne vorkommen können.

Die neuen biologischen Untersuchungen von G. Retzius (80) veranlassten mich, das Ehrlich-Biondische Farbgemisch auf die Urgeschlechtszellen anzuwenden. Es war eine längst bekannte Tatsache, dass sich in Kernen, welche nicht in Teilung treten, das Chromatin nach Biondi rot färbt, während es sonst in der Regel das Methylgrün des Gemisches aufnimmt. Bekannte Beispiele dafür sind die Kerne der Ganglienzellen und der tierischen Eizellen (Magnus [59]).

Ein weiteres, sehr instruktives Beispiel erwähnt Heidenhain: Die Kerne im Oberflächenepithel des Urodelendarmes, welche sich nicht mehr zu teilen pflegen, färben sich fast ganz rot, oxychromatisch, während diejenigen im Keimlager, wo man viele Mitosen findet, grünblaue Färbung annehmen, also sich basichromatisch tingieren.

Der Grund ist darin zu suchen, dass, wie Heidenhain schreibt, „die Affinitäten der chromatophilen Mikrosomen der Kerngerüste gegenüber den basischen und sauren Anilinfarbstoffen sich nach gewissen physiologischen Zuständen des Kernes oder der Zellen regulieren, in betreff deren wir bisher eine genauere Einsicht noch nicht haben“.

Die Farbreaktion ist jedenfalls durch den Phosphorgehalt der betreffenden chromatischen Substanzen bedingt, denn nach Lilienfeld ([58], zitiert von Retzius) nimmt Eiweiss das Fuchsin, Nukleinsäure das Methylgrün auf. Während der Vorbereitung zur Teilung schwindet das Oxychromatin völlig, um nachher in den Tochterkernen neu gebildet zu werden (Heiden-

hain [46]). Die Chromosomen, welche das Methylgrün am reinsten aufnehmen, müssen einen besonders hohen Gehalt an Nukleinsäure besitzen.

Es scheint nach neueren Untersuchungen aber noch ein wichtiger Faktor hinzuzutreten: Unna (93) ist der Ansicht, dass das Methylgrün nur die sauren „Sauerstofforte" der tierischen Gewebe färbe. Er setzt hinzu: „Es ist nur eine hübsche Bestätigung von der negativen Seite her, dass es eine Kernart im tierischen Organismus gibt, welche keinen freien Sauerstoff enthält (da er ihm wahrscheinlich kontinuierlich vom Protoplasma entzogen wird), nämlich die Ganglienkerne, und dass diese sich (Mosse, Unna) nicht mit Methylgrün und auch nicht mit Rongalitweiss färben." Das Methylgrün, welches speziell die Nukleinsubstanzen färbt, soll nach Unna durch den freien Sauerstoff des „Sauerstoffortes" nicht verändert, sondern nur vor Entfärbung geschützt werden.

Wenn ich Unna recht verstehe, gehört also zu den Aufnahmebedingungen für Methylgrün durch Gewebselemente erstens Gehalt an Nukleinsubstanzen, und zweitens Vorhandensein von freiem Sauerstoff.

Von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet, ist ein Befund von Retzius (80) interessant, wonach sich die Kerne der jüngsten Entwicklungsstadien von Ascaris während des Ruhestadiums stets rot und nur während des Spindelstadiums grünblau färben. Etwa vom Blastulastadium ab schlägt die Reaktion plötzlich um: Die Kerne färben sich von nun ab, ebenso wie es in älteren Geweben die Regel ist, grünblau. Demnach muss der Kernchemismus in den jüngsten Embryonalzellen ein anders gearteter sein, als in älteren. Nach den Unnaschen Ergebnissen zu schliessen, muss wohl der Sauerstoff eine Rolle dabei spielen, denn ein so plötzlicher Umschwung in der chemischen Zusammensetzung des Chromatins selber ist wohl kaum anzunehmen.

Ich habe diese Frage ausführlicher erörtert, weil bei unserem Objekt die Färbung nach Ehrlich-Biondi ergab, dass sich die Kerne der Urgeschlechtszellen ausschliesslich rot, diejenigen der Mesodermzellen dagegen teils rot, teils grünblau färben. In letzteren werden die Nukleolen ganz dunkelrot, mit einer violetten Nuance, die chromatische Schale scheint aus Oxychromatin zu bestehen. Dagegen zeigen Gerüstwerk und Kernmembran sich

dicht besetzt mit grünblauen Chromiolen. Hiermit stimmt eine Angabe von Heidenhain (46) überein, wonach das Biondi-Gemisch die Kügelchenstruktur gut färbt, im Gegensatz zum Eisenhämatoxylin.

Auch in den Urgeschlechtszellen treten die Chromiolen, welche hier Oxychromiolen sind, schön hervor. Ich bitte, hierzu Fig. 7 zu betrachten, welche nach einem Schnitt durch einen 73 Stunden bebrüteten Embryo gezeichnet ist, der mit frisch angesetzter 4 proz. Sublimatlösung fixiert wurde. Sublimat-Eisessig (Fig. 6) fixierte die Chromiolen schlecht, so dass man nur faseriges Gerüstwerk sieht.

Schnitte von dem erstgenannten Embryo zeigen dementsprechend nach der Färbung mit Hämatoxylin nach Delafield, wie zu erwarten war, in den Kernen der Mesodermzellen die basophilen Chromiolen gefärbt, während man die oxyphilen der Urkeimzellen wohl nur als sich kaum abhebende Pünktchen erkennt, wenn man die Biondibilder gesehen hat.

Ich bin in der Literatur keinerlei entsprechenden Angaben begegnet, bis auf eine von Allen (1) herrührende, wonach das chromatische Netzwerk in Urgeschlechtszellen von Säugern verschieden ist vom „granulierten Chromatin“ der umliegenden Zellen.

Bei der Biondifärbung begegnet man öfters inmitten der verbackenen Chromatinmassen der Urgeschlechtszellen einem oder zwei Nukleolen, welche rotviolett tingiert sind. Dieselben zeigen auch bei Delafieldfärbung dunklere Farbe.

Woher kommt es nun, dass die Urgeschlechtszellen diese Eigenarten bei der Biondifärbung zeigen? Liegen die Gründe in dem Ausbleiben von Zellteilung, entsprechend den Erscheinungen bei der ausgewachsenen Ganglienzelle, oder haben wir hier primitive Charaktere vor uns, deren Besitz verschiedene Autoren von den Keimbahnzellen behaupten? Bevor man das letztere annimmt, müsste erst der Nachweis erbracht werden, dass sich die Kerne der Furchungszellen beim Huhn der Biondifärbung gegenüber in gleicher Weise verhalten, wie die jüngsten Kerne von Ascaris.

Einstweilen möchte ich für die Auffassung plädieren, dass das Ausbleiben von Zellteilung die Ursache ist. Falls bei den Urgeschlechtszellen der Vögel seit der Zeit ihrer „Absonderung“ von Furchungszellen, wie sie manche Forscher, entsprechend ähnlichen Verhältnissen bei verschiedenen Wirbellosen, theoretisch

annehmen, die Teilungen, wie bei den Copepoden, wirklich ausbleiben, besässen wir in der Färbung nach Ehrlich-Biondi ein wichtiges Mittel zu ihrer Rückverfolgung.

B. Das Protoplasma.

1. Allgemeines.

Während verhältnismässig nur wenige von den Forschern, welche die Keimbahn von Wirbellosen studierten, die Struktur des Kernes als Erkennungszeichen für die Rückverfolgung der Urkeimzellen benutzten, haben spezielle Strukturen und Einschlüsse des Protoplasmas dieser Zellen seit langem die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt.

Bedauerlicherweise fassen viele Zoologen derartige Gebilde noch immer unter dem Namen „Keimbahnchromidien" zusammen. Der Begriff Chromidium, den R. Hertwig seinerzeit in einer Reihe von klassischen Arbeiten aufstellte und aufs Exakteste definierte, ist ja leider nachgerade von vielen Zoologen zu einem Sammeltopf gemacht worden, in den alle plasmatischen Differenzierungen hineingesteckt werden, die man anderweitig nicht unterzubringen weiss.

Es kann hier nicht meine Aufgabe sein, näher auf diese Frage einzugehen. Die Entscheidung, welche als Chromidien in Metazoenzellen beschriebenen Strukturen wirklich aus dem Kerne stammen, — das ist bekanntlich das Charakteristikum eines Chromidiums — und welche nicht, lässt sich nur auf Grund exakter technischer Nachprüfungen am selben Objekt fällen. Nur wenn Autoren, wie z. B. Goldschmidt (36) und Popoff (77) die Mitochondrien und den inneren Netzapparat direkt aus dem Kern stammen lassen und daher als verschiedene Formen der Chromidien hinstellen, so ist das entschieden zurückzuweisen. Der Chromidialbegriff ist von seinem Urheber scharf umgrenzt. Dass Kern und Plasmastrukturen, wie z. B. die Mitochondrien, sich indirekt beeinflussen können (vergl. hierzu van der Stricht [91]), ergibt sich aus der einfachen Tatsache, dass eine Zelle eben ein geschlossenes, physiologisches Ganzes darstellt, dessen funktionierende Teile sicherlich Wechselwirkungen aufeinander ausüben. Davon sind aber die genetischen Beziehungen streng zu trennen.

Ich will hier nur daran erinnern, das keine geringeren als Benda (14) und Golgi (40), welche unsere Kenntnis der Plasma-

strukturen durch ihre Entdeckungen der Mitochondrien einerseits, des inneren Netzapparates andererseits, um einen gewaltigen Schritt förderten, beide den Gedanken, die von ihnen beschriebenen und benannten Strukturen könnten chromidialer Natur sein, entschieden ablehnen.

Die Natur der die Keimbahnzellen bezeichnenden Plasmaeinschlüsse bei manchen Wirbellosen ist zum Teil sehr rätselhaft. Vor zwei Jahren hat Buchner (22) die Formen zusammengestellt, bei denen solche Gebilde vorkommen. Seine Arbeit diente mir als Leitfaden für die diesbezügliche Literatur. Er stellt die Möglichkeit hin, dass alle „Keimbahnchromidien“ stets auf zwecks Ernährung ins Ei aufgenommene Nährzellen zurückzuführen seien und prägt dafür den Namen „trophogame Keimbahnbestimmung“.

Dass eine durch „Trophogamie“ aufgenommene Nährzelle die ersten Keimbahnstadien bezeichnen kann, ist ja längst bekannt. Zuerst wurde sie wohl von Weismann und Ishikawa (96) bei Moina und Daphnia beschrieben, dann fand man sie ausser bei anderen Entomostraken noch bei Cölenteraten und bei Sagitten (22). Nun ist Buchner geneigt, auch andere im Eiplasma gefundene rätselhafte Körper als verschiedene Degenerationsstufen von Nährzellen, resp. von deren Kernen, aufzufassen, so unter anderem den wurstförmigen Körper im Ei von Chironomus, welcher bei der Furchung in die „Polzellen“, wie man einen gewissen Komplex von besonderen Zellen nennt, die den Keimbahnzellen entsprechen, gelangt, wie Balbiani (6) und Ritter (82) fanden, und Hasper (43) im letzten Jahre bestätigen konnte. Selbst Haeckers „Ektosomen“ (42) hält Buchner für das Degenerat einer aufgenommenen Zelle. Ich habe diese Gesichtspunkte hier aufgezählt, da manche von ihnen weiter unten für Vergleiche mit den Plasmadifferenzierungen, die ich in den Urgeschlechtszellen des Huhnes fand, in Betracht kommen werden. Ich möchte bei dieser Gelegenheit der Ansicht Ausdruck geben, dass man überhaupt in Keimbahnuntersuchungen bei Wirbeltieren sich nicht auf diese Klasse beschränken darf, sondern auch die Wirbellosen zur Diskussion heranziehen muss, damit ein umfassender Gesichtspunkt gewahrt bleibt.

Bei den Urgeschlechtszellen der Wirbeltiere sind bisher, soweit ich die Literatur kenne, ausser von Rubaschkin (85)

und Tschaschin (92), deren Angaben im Kapitel über die Mitochondria berücksichtigt werden sollen, bisher keine speziellen Plasmastrukturen beschrieben worden.

Was den Protoplasmabau im allgemeinen anbelangt, so wird verschiedentlich auf dessen helles Aussehen und seine geringe Färbbarkeit hingewiesen. Felix (31) spricht bei denjenigen der Salmoniden, Rubaschkin (84) bei Säugetieren, von feinkörnigem Aussehen.

Bei den Urgeschlechtszellen des Huhnes hebt sich ihr Plasma, vor allem nach Fixierung mittelst Hermannscher Lösung, welche ja bekanntlich Plasmastrukturen besonders gut zur Anschauung bringt, durch seine Helligkeit gegen dasjenige der umliegenden Zellen scharf ab (vergl. Fig. 1). Dies rührt daher, dass es einen ausgesprochenen wabigen Bau besitzt, wohingegen das Plasma der Mesodermzellen ein viel mehr homogenes und dichtes Aussehen darbietet.

Rubaschkin hebt hervor, dass man die Urgeschlechtszellen bei einigen Säugern nur dadurch von den grossen Lymphocyten unterscheiden könne, dass das Plasma der ersteren bei Färbung mit Eosin-Azur nach Fixierung mit Zenkerscher Flüssigkeit sich fast gar nicht oder nur schwach rotblau färbe. Beim Huhn erhielt ich bei gleicher Behandlungsweise ein entsprechendes färberisches Bild, nach Fixierung mit Hermannschem Gemisch und Färbung mit Eisenhämatoxylin stach das Plasma aber mindestens ebenso schön ab.

Eine Eigenart, die von vielen Autoren bei den Urgeschlechtszellen der Wirbeltiere hervorgehoben wird, ist ihr Dotterreichtum, welcher vielfach für die Hypothese, dass sie direkt von Furchungszellen abstammen, zum Beweis herangezogen wird, so z. B. von Beard (12) bei Selachiern. Auch Nussbaum fand beim Huhn den Dottergehalt erheblich, ebenso Rubaschkin und Tschaschin. Ersterer trifft, besonders bei der Fixierung in Zenker-Formol, in einigen Urkeimzellen „eine grössere oder geringere Menge Dotterkörner verschiedener Grösse", die meisten sollen bei eben dieser Fixierung keine derartigen Gebilde aufweisen, „man entdeckt dann in den Zellen helle Höhlungen von verschiedener Grösse, die ihrer äusseren Form nach den Dotterkörnern entsprechen, weshalb ihr Protoplasma mehr oder weniger stark vakuolisiert erscheint".

Ich kann dies letztere im allgemeinen bestätigen, ebenso Tschaschins (92) Angaben, dass nach Behandlung mit modifiziertem Flemmingschem Gemisch grosser Dotterreichtum zu konstatieren sei, nur kann ich nicht glauben, dass die von mir vorher erwähnte wabige Struktur allein durch die Negative von Dotterbestandteilen vorgetäuscht wird, vielmehr hat es den Anschein, als ob die Dotterschollen — von „Dotterplättchen", wie etwa in den Blastomeren vom Frosch, kann man hier eigentlich nicht reden — im Inneren präformierter Wabenwände lägen.

Eigentümlich ist es, wie verschieden sich die Dotterschollen in bezug auf die Reduktion der Osmiumsäure verhalten. Man trifft sowohl osmierte wie unosmierte in derselben Zelle nebeneinander.

Wenn man eine neue Zellart untersucht, so muss man auf folgende, im allgemeinen als ubiquitär angesehene, plasmatische Zellorgane Rücksicht nehmen: auf den Centrenapparat, die Mitochondria und den inneren Netzapparat (Golgi) oder das Binnennetz (Kopsch). Von besonderer Wichtigkeit ist dies, wenn es sich um Zellen handelt, aus denen, wenigstens mit grosser Wahrscheinlichkeit, die Geschlechtszellen hervorgehen, bei denen die wichtige Rolle dieser Zellorganellen durch die Forschungen der letzten Jahre immer mehr hervortritt. Dazu kommt, dass diese Strukturelemente nicht bei der Teilung zugrunde gehen, sondern als integrierende Organe auf die jungen Zellgenerationen verteilt werden und bei der Befruchtung mit der Samenzelle ins Ei gelangen. Auch von dem Binnennetz behauptet Perroncito, dass ein „Überrest" von ihm stets am kaudalen Ende des Samenfadenkörpers nachzuweisen sei

2. Der Centrenapparat.

Die Ubiquität dieses Gebildes wurde viel später entdeckt als diejenige des Kernes. Dass auch in den embryonalen Geweben Centralkörperchen vorkommen, wurde vor allem von Heidenhain und Cohn (44) gezeigt.

Zum Centrenapparat gehören auch die Sphären und, besonders in der Spermiogenese eine grosse Rolle spielend, die Idiozome. Auf diese beiden letzteren Gebilde brauche ich hier nicht näher einzugehen, da ich sie in den Urgeschlechtszellen am 3. und 4. Bebrütungstage nicht habe feststellen können.

In meiner vorläufigen Mitteilung über den Netzapparat unserer Zellen habe ich verschiedentlich von einer „Sphäre" gesprochen. Es handelte sich dort um mit starker Flemmingscher Lösung und mit Eisenhämatoxylin behandelte Präparate. In diesen zeigte das die Centralkörperchen umgebende Plasma innerhalb des Binnennetzes eine dunklere Färbung, so dass ich diesen Bezirk für eine idiozomartige Bildung hielt. In Hermann- und Zenker-Formol-Präparaten ist mir nachher aber nie wieder ein entsprechendes Gebilde begegnet, so dass ich zu der Annahme berechtigt zu sein glaube, dass ich damals einem durch die berüchtigten Launen der Eisenhämatoxylintinktion veranlassten Irrtum zum Opfer gefallen bin. Ich glaube, dass die Nachbarschaft der Centralkörperchen und des Binnennetzes zu dem verlangsamten Ausziehen des Farbstoffes durch die Eisenalaunlösung in Beziehung stand.

Rubaschkin (83) konnte „Centrosomen" in späteren Stadien sehr leicht in unserem Objekt konstatieren. Er fährt fort: „In den früheren Entwicklungsstadien aber, so lange die Zellen noch in der Visceralplatte liegen, lassen sich die Centrosomen nicht mit genügender Sicherheit nachweisen."

Hin und wieder sind mir die ausserordentlich kleinen Centralkörperchen, auch am 3. Tage, in unzweifelhafter Weise vor Augen getreten. Am leichtesten erkennt man sie in nach Benda vorbehandelten und mit Eisenalizarin-Kristallviolett oder Eisenhämatoxylin gefärbten Schnitten, wenn der Netzapparat die Form eines Ringes mit daran ansetzenden, feinsten Fasern besitzt. Inmitten dieser Konfiguration erkennt man sie leicht (Fig. 4 und 8). Wenn das Netzwerk dichter ist und vor allem die Fasern anders orientiert sind, kann man sie nicht mit Sicherheit von den optischen Querschnitten mancher Fäden unterscheiden. Auch nach Fixierung mit Zenker-Formol kann man sie gelegentlich mit Sicherheit erkennen, sie sind dann bei Eisenhämatoxylinfärbung von einem hellen Hof umgeben (Fig. 2).

In Hermann-Präparaten sind sie von kleinen, schwarzen Partikelchen im Plasma, welchen man öfters begegnet, nicht sicher zu unterscheiden.

Die Centralkörperchen scheinen in den Urgeschlechtszellen nur in der bekannten Doppelform vorzukommen, wie sie auch Rubaschkin (83, Fig. 9) abbildet. Ihre Lage in der Zelle ent-

spricht der von Heidenhain aufgestellten Regel: Sie liegen an „primärem Orte“, in dem „Radius vector der Zelle“, d. h. in einer durch die Mitte des Kernes und des breitesten Teiles des umgebenden Plasmamantels gezogenen Linie.

3. Die Mitochondria.

Die Mitochondrien wurden bekanntlich von Benda in Samenzellen entdeckt, nachdem La Valette St. George und Brunn (Benda [13]) sie schon früher zu Gesicht bekommen hatten, und in einer Reihe von klassischen Arbeiten näher beschrieben und erforscht. Nach ihm waren es besonders Meves und Duesberg, welche die Rolle der Mitochondrien in der Spermiogenese von Wirbellosen und Wirbeltieren ergründeten.

Benda, welcher sofort die weittragende Bedeutung seiner Entdeckung erkannt hatte, suchte und fand die Fadenkörner als erster auch in Eizellen und jungen Furchungszellen, sowie in verschiedenen Geweben des ausgewachsenen Körpers. Ihre Bedeutung in der Ovogenese wurde dann vor allem von van der Stricht und seiner Schule dargelegt, während ihre Entdeckung in Körperzellen, besonders in funktionell hervorragend tätigen Epithelien, eine wahre Hochflut von speziellen Arbeiten nach sich zog, aus welcher sich mehr und mehr ergab, dass die Mitochondrien integrierende, celluläre Organellen sind.

In embryonalen Zellen zur Zeit der Keimblätterbildung und Organentwicklung fand sie zuerst Meves, und zwar beim Hühnerembryo (64). Dieser Forscher nahm auch den zuerst von Benda ausgesprochenen Gedanken auf, dass die Mitochondrien oder „Chondriosomen“, wie er sie nannte, als Vererbungsträger in Betracht kommen könnten, da es als feststehend gelten konnte, dass diejenigen des Spermiums bei der Befruchtung, ebensogut wie der Kern, in die Eizelle gelangen.

Duesberg (27), welcher sie ungefähr gleichzeitig mit Rubaschkin (85) in den Embryonalzellen der Säuger beschrieb, versuchte dann den Nachweis zu erbringen, dass eine Kontinuität der Mitochondrien der Geschlechtszellen mit denjenigen der Zellen des Embryos bestehe.

Die Hypothese, dass die Fadenkörner Primitivorgane der Zelle seien, stösst bei manchen Forschern aber noch immer auf Widerstand. Ich erwähne hier nur die sicherlich nicht leicht

mit Stillschweigen zu übergehende Ansicht Prenants (78), welcher die Mitochondrien seinem „Protoplasma inférieur" zurechnet, da sie dem Wechsel unterworfen seien, also keine Primitivorgane sein könnten. Als „Protoplasma supérieur" bezeichnet er neuerdings vielmehr das undifferenzierte Plasma, welches er als das Substrat für die Funktionen der Zelle betrachtet.

Wenn man nicht die Ansicht Prenants teilt und bedenkt, dass die Mitochondrien bei der Zellteilung erhalten bleiben und sich auf die Tochterzellen verteilen, so dass sie von Zellgeneration zu Zellgeneration fortgeerbt werden, so muss man zugeben, dass ihr Verhalten in den Urgeschlechtszellen, vorausgesetzt, dass diese wirklich die Vorfahren der Keimzellen sind, von besonderem Interesse sein muss, denn dann wären deren Mitochondrien ja sozusagen die Stammeltern der gleichnamigen Gebilde in den Geschlechtszellen sowohl, wie in dem jungen Organismus, welcher aus diesem seinen Ursprung nimmt.

Rubaschkin (85) hat das Verdienst, als erster diesem Gedanken nachgegangen zu sein. Er fand, dass in den undifferenzierten Zellen von jungen Säugetierkeimen für die Chondriosomen die körnige Form eigentümlich sei, welche sich dann im Laufe der Entwicklung in die Kettenform, dann in die Stäbchen-, resp. Fadenform umwandle. Die Urgeschlechtszellen zeigen ihren primitiven Charakter darin, dass ihre Mitochondrien noch Körnchenform zeigen zu einer Zeit, wo die der Gewebszellen schon Faden- oder Stäbchengestalt besitzen.

Diesen interessanten Befund bewies derselbe Autor auf dem Anatomenkongress zu Leipzig 1911 durch schöne Präparate. Er konnte die Urgeschlechtszellen der Säuger durch Berücksichtigung dieses Merkzeichens weiter zurückverfolgen als irgend jemand vor ihm.

In bezug auf die Chondriosomen selbst stellt Rubaschkin die Hypothese auf, dass ihre primitive Form die körnige sei, und sie sich erst im Laufe der Entwicklung in kettenförmige und fadenförmige Arten verwandelten. Im allgemeinen ähnliche Beobachtungen machte auch Duesberg bei Säugetieren.

Ob es sich hier um ein allgemein gültiges Prinzip handelt, oder ob die körnige Form nur charakteristisch für die primitive Embryonalzelle der Säugetiere ist, müssen weitere Untersuchungen ergeben. Meves (64) kam auf Grund seiner Studien am Hühner-

embryo, den er, allerdings erst vom Dreiblätterstadium ab, untersuchte, zu dem Schluss, dass die ketten- und kornförmigen Chondriosomen durch Verdickung und Verkürzung aus den faden- und stäbchenförmigen hervorgingen.

Tschaschin (92) untersuchte, vom gleichen Gesichtspunkte aus wie Rubaschkin, die Urgeschlechtszellen von Vogelembryonen auf ihre Mitochondrien. Auch er kam zu dem Ergebnis, dass diesen die Körnchenform eigen sei.

Tschaschin färbte, ebenso wie Rubaschkin, ausschliesslich mit Eisenhämatoxylin. Ich möchte hierzu bemerken, dass diese Methode für dotterarme Zellen, wie die Embryonalzellen der Säuger, geeignet sein mag, dass ich sie aber für die Urgeschlechtszellen der Vögel, in deren Plasma in der Regel reichliche Dottersubstanzen vorkommen, für bedenklich halte, wenigstens ohne Kontrolle vermittelst anderer Mitochondrienfärbungen. Benda (13) hebt gelegentlich hervor, dass sich die Eisenhämatoxylintinktion zur Aufsuchung der Fadenkörner in neuen Geweben, in denen sie bis dahin noch nicht gefunden wurden, nicht eigne, da hierbei viele Gewebsbestandteile mitgefärbt werden, welche nicht mitochondrialer Natur sind. Tschaschin erwähnt selber, dass ihm die Differenzierung grosse Schwierigkeiten bereitet habe.

Ich habe die Angaben des letztgenannten Autors nachgeprüft, indem ich neben der Eisenhämatoxylinmethode besonders die Eisenalizarin-Kristallviolettfärbung nach Benda zur Anwendung brachte, bei welcher sich die Dottersubstanzen nicht, wie die Mitochondrien, färben.

Ich gebe Tschaschin darin recht, dass der weitaus grösste Teil der Mitochondrien kornförmige Gestalt zeigt, allerdings sind ihre Konturen meistens nicht rundlich und glatt, sondern sie sind vielfach unregelmässig ausgezogen und eckig. Ich bitte, hierzu Fig. 4, 5, 8, 9 und 10 zu betrachten. Neben den kornförmigen Chondriosomen trifft man auch kürzere oder längere Ketten an. Ferner fand ich gelegentlich ein dichtes Büschel von kurzen Ketten und Stäbchen, dessen mitochondriale Natur mir aber zweifelhaft erscheint. In Fig. 9 ist ein solches rechts vom Kern zu sehen. Da aus dieser Zelle der violette Farbstoff bei der Differenzierung in Essigsäure nicht ganz genügend ausgezogen war, so dass die zusammengeballten Chromatinmassen des Kernes

noch nicht die vorschriftsmässige Alizarintinktion erkennen lassen, halte ich es für möglich, dass in dem Büschel Teile des Netzapparates zur Anschauung gelangten, auf den ich im nächsten Kapitel ausführlich eingehen werde.

Das Bild, welches die Mitochondrien im Eisenhämatoxylinpräparat bieten, hängt zu sehr von dem Grad der Differenzierung mit Eisenalaun ab. In anderen Embryonalzellen, in welchen das Protoplasma eine mehr kompakte Struktur besitzt, lassen sie sich viel leichter von Kunstprodukten unterscheiden, als in den Urgeschlechtszellen. Dort sind, bei zu kurzer Differenzierung, die Wände der wabigen Hohlräume — ob es sich um Negative von Dotterteilchen oder um präformierte Gebilde handelt, tut hier nichts zur Sache — geschwärzt und können dann alle möglichen mitochondrialen Strukturen vortäuschen. Ganz einwandfreie Bilder erhält man nach meinen Erfahrungen nur mit Eisenalizarin-Kristallviolett.

Die Mitochondrien sind in der Regel im ganzen Zelleibe verteilt. Manchmal sind sie in den den Netzapparat umgebenden Plasmapartien etwas dichter angehäuft.

Für ein ganz zuverlässiges Kennzeichen für die Urgeschlechtszellen kann ich sie bei Huhn und Ente nicht halten, da sie, wie vorher erwähnt, gelegentlich zu Ketten zusammentreten können, und auch in den umliegenden Zellen neben Fädchen recht häufig Körnchen vorkommen. Auch in anderen Geweben des Hühnerembryos trifft man Zellen an, welche ausschliesslich runde Chondriosomen aufweisen. So fand ich häufig im Mesenchym, nicht weit vom Cölom entfernt, eine kleine, runde Zellart, deren nähere Natur ich nicht zu ergründen vermochte, welche schöne, runde, bei Bendafärbung leuchtend violette Mitochondrien besitzt.

Unlängst hat Perroncito (71, 72, 73) behauptet, in den Samenzellen verschiedener Tiere auch Mitochondrien vermittelst der Arsensilbermethode von Golgi dargestellt zu haben. Er gibt davon auch zahlreiche Abbildungen, hält die Möglichkeit für vorhanden, dass Meves in seiner bekannten Arbeit (64) in den Embryonalzellen des Huhnes nicht nur Chondriosomen, sondern dazwischen auch Teile des Binnennetzes abgebildet habe, da solche auch durch die Eisenhämatoxylinfärbung, nach Fixation mit Chromosmiumessigsäuregemischen hervortreten. Dass dies letztere möglich ist, gedenke ich im folgenden Kapitel auszuführen.

Die Behauptung, die Mitochondrien seien mit arsensaurem Silber zu imprägnieren, veranlasste mich, in meinen nach Golgi behandelten Präparaten speziell mein Augenmerk hierauf zu richten, sowohl bei den Urgeschlechtszellen, als auch im embryonalen Bindegewebe, in welchem ja bekanntlich die Chondriosomen hauptsächlich in Gestalt von gebogenen Fäden den Zelleib und die plasmatischen Ausläufer durchsetzen und nicht zu verkennen sein konnten.

Mir ist, auch in den bestimprägnierten Blöcken, nie ein Chondriosom, entsprechend einer der Abbildungen von Meves (64), bei Anwendung der neuen Methode von Golgi, zu Gesicht gekommen, weder in den Urgeschlechtszellen, noch im embryonalen Bindegewebe. In letzterem trifft man allerdings reichlich kleine, imprägnierte Granula, welche in der Gegend des Binnennetzes am dichtesten sind und auch in den Fortsätzen der Zellen liegen. Kunstprodukte sind es auf keinen Fall, denn solche sind in derartigen Präparaten leicht zu erkennen. Chondriosomen sind es aber ebensowenig, denn dann müssten es in der Hauptsache Fäden und Schleifen sein, aber keine runden Granula, welche sich in regelmässiger Weise in der Zelle verteilen.

Der Gedanke liegt nahe, ob Perroncito in den Samenzellen von Gastropoden nicht Bildungen einer ähnlichen Kategorie vor Augen gehabt hat. Andernfalls besässen wir in der Arsensilbermethode von Golgi ein Hilfsmittel, um die Chondriosomen älterer Embryonen von den Mitochondrien der Geschlechtszellen färberisch zu unterscheiden. Ihre Kontinuität würde dadurch ernstlich in Frage gestellt werden. Einstweilen erscheint es mir aber als sehr zweifelhaft, ob eine Abtrennung möglich sein wird. Die ganze Granulafrage ist überhaupt noch viel zu ungeklärt, als dass man sie jetzt schon in ein festes System bringen könnte.

4. Der innere Netzapparat.

Während man den Mitochondrien nicht nur in bezug auf ihre morphologischen, sondern auch auf ihre funktionellen Eigenschaften während der letzten Jahre in vielen Punkten beigekommen ist, — ich erinnere nur an die Sekretbildung, Dotterbildung, Myofibrillen-, Neurofibrillen-Genese usw. — tappen wir hinsichtlich der Funktion des Netzapparates noch ganz im Dunkeln. Nur hin und wieder begegnen wir Hypothesen, welche wenigstens etwas

Licht auf die Bedeutung dieses integrierenden Zellapparates werfen wollen.

Da in der Urgeschlechtszelle des Huhnes, wie ich vorhin auszuführen suchte, während des 3. und 4. Bebrütungstages der Zellstoffwechsel ein sehr träger sein muss, da sie während dieser Zeit weder in Funktion, noch, wenigstens in der Regel, in Teilung tritt, muss sie ein ausgezeichnetes Objekt sein, um die bisher an anderen Zellarten erhobenen Befunde daran zu prüfen.

Vielleicht ist es nicht nutzlos, vorher einen kurzen, allgemeinen Überblick über die Entwicklung und den derzeitigen Stand der Binnennetzfrage zu geben. Danach werde ich die Hauptfragen präzisieren und an unserem Objekt prüfen.

In früheren Zeiten ist der innere Netzapparat sicher öfter gesehen, aber fast nie exakt beschrieben und bearbeitet worden, wohl, weil seine lückenlose Darstellung, bevor die Methoden von Golgi und Kopsch bekannt waren, auf grosse Schwierigkeiten stiess.

Der erste, der ihn, worauf Perroncito aufmerksam macht, wohl vor Augen gehabt hat, war v. la Valette St. George (57). Dass dessen „Nebenkern“ ausschliesslich dem Netzapparat entsprach, wie Perroncito anzunehmen scheint, dürfte fraglich sein, nachdem ein Kenner der einschlägigen Verhältnisse, wie Meves (63), ihn als Mitochondria plus Idiozom ansprach. Vielleicht treffen wir das Richtige, wenn wir das Mittel nehmen und Mitochondria plus Idiozom plus Binnennetz sagen.

Der einzige Forscher vor Golgi, welcher den Netzapparat richtig würdigte, und auch eingehend sogar in seiner Rolle bei der Zellteilung beschrieb, war Platner (74, 75, 76). Er beobachtete ihn in Samenzellen verschiedener Pulmonaten, deren Gonaden hauptsächlich in Flemmingscher Lösung konserviert waren. Ich will hier schon bemerken, dass dieses Fixierungsmittel, wenn auch in seltenen Fällen, das Binnennetz in hervorragender und fast lückenloser Weise erhalten kann. Platner berichtet, dass sein „Nebenkern“ bei Arion aus Stäbchen zusammengesetzt sei und bei Helix eine unregelmässige, ringförmige Figur bildet. Nachdem er zuerst angenommen hatte, der Nebenkern könne zugrunde gehen und teile sich im Anschluss an die Kernteilung, ihn dann aus dem Kern entstehen und bei Bildung des Knäuels in demselben wieder aufgehen liess, trat er schliesslich mit der

Angabe hervor, der Nebenkern verschwinde nie, sondern er trete vor dem Kern in Teilung ein und beherberge in sich das Centrosom. Die Teilung soll so verlaufen, dass er in Stäbchen zerfällt, diese sich längs spalten und in zwei Gruppen entlang der Kernmembran auseinanderrücken. Danach erst folgt die Kernteilung.

Ein ganz ähnliches Verhalten des Netzapparates bei der Teilung hat jetzt Perroncito beschrieben und als „Diktyokinese" bezeichnet. Die Entdeckung Platners ist also erst nach 21 Jahren eigentlich bestätigt worden. Während die Angaben Perroncitos grosses Aufsehen machten, wohl, weil die Binnennetzfrage zurzeit aktuell ist, sind Platners schöne und seiner Zeit vorauseilende Beobachtungen so ziemlich in Vergessenheit geraten. In, den Netzapparat betreffenden, historischen Überblicken wird sein Name nur sehr selten genannt.

Nach ihm beschrieb Hermann (48) in den Samenzellen von Proteus und Helix unter dem Namen „Archoplasmaschleifen" Gebilde, welche sicher zum Netzapparat gehören.

Zu den früheren Autoren, welche das Binnennetz zweifellos gesehen haben, ohne ihm genauer nachzugehen, möchte ich auch Meves (62) rechnen. Er machte im Jahre 1897 gelegentlich der Untersuchung der Spermiogenese von Salamandra maculosa die Angabe, dass, nach Osmiumfixierung und Eisenhämatoxylinfärbung, die Sphäre von schwarztingierten Stäben und Fäden durchsetzt wäre. Wie ich weiter unten darlegen werde, lässt sich das Binnennetz mit dieser Technik gelegentlich schön darstellen.

Inwieweit das „Protoplasma supérieur" von Prenant, welches Perroncito ebenfalls dem Netzapparat zurechnet, demselben entspricht, entzieht sich meiner Beurteilung.

Im Jahre 1898 trat Golgi (37) mit seiner Darstellung des „Apparato reticolare interno" vermittelst seiner Chromsilbermethode hervor. Mit der diesem Forscher eigenen Vorsicht äusserte er sich zunächst nicht über die Bedeutung und die Funktion. Dass der Apparat ein wichtiges Zellorgan sei, wurde durch Golgis Befund an embryonalen Nervenzellen im Jahre darauf wahrscheinlich gemacht.

Unabhängig von Golgi beschrieb Fürst (34) 1902 Gebilde in den Kopf- und Spinalganglienzellen des Lachses, welche dem Binnennetz zuzurechnen sind. Ich erwähne diese Arbeit besonders,

weil Fürst gewisse Beziehungen zur Sphäre zugibt und hervorhebt, dass seine „Ringe, Ringreihen, Fäden und Knäuel" in verschiedenen Aktivitätszuständen auftreten. Er schreibt: „Die verschiedenen Anordnungen und Formen dieser Gebilde bezeichnen Bewegungen und Veränderungen der Elementarteile."

Auf die schwierige Frage, inwiefern die Trophospongien Holmgrens, deren Beschreibung auch in die letzten Jahre des vorigen Jahrhunderts fällt, dem inneren Netzapparat entsprechen, kann ich hier nicht näher eingehen. Ich will hier nur die gewichtige Meinung Golgis (40) anführen, nach welcher die „Saftkanälchen" im allgemeinen nicht mit dem Binnennetz zu homologisieren sind, welcher aber zugibt, dass einige der von Holmgren beschriebenen Formen zu ihm in Beziehung gebracht werden könnten.

Ich will von nun ab auf die sehr grosse Literatur, welche sich auf den Netzapparat in Nervenzellen bezieht, nicht näher eingehen und nur die wichtigsten Arbeiten erwähnen, die über diese Strukturen in anderen Gewebszellen handeln.

Binnennetze in Zellen, welche nicht zum Nervensystem gehören, wurden zuerst von Pensa (69) beschrieben, und zwar in der Nebenniere.

Auf dem Anatomenkongress zu Pavia 1900 wurden dann solche von Gemelli (54) in der Hypophyse, von Negri (54) in Eiweißspeicheldrüsen, Pancreas, Nebenhoden, Schilddrüse und Follikelepithel des Eierstockes demonstriert. In den nächsten Jahren wurde dann danach in vielen anderen Körpergeweben mit Erfolg gesucht, so in den meisten Epithelien, Bindegewebs- und Knorpelzellen, ja sogar in Leucocyten, grossen Lymphocyten, tuberkulösen Riesenzellen und quergestreiften Muskelfasern (vergl. Golgi [40]).

Vor allem der Nachweis ihres Vorkommens in Zellen des fliessenden Blutes (von Bergen [17]) war wichtig, weil dadurch der Behauptung Holmgrens, sie seien identisch mit seinen Trophospongien, welche intracellulären Fortsätzen anderer Zellen entsprechen sollen, der Boden entzogen wurde (Sjövall [89])

Eine andere Methode zur Darstellung der Binnennetze wurde 1902 von Kopsch (55) gefunden. Sie hat den Vorteil, dass sie diese Strukturen viel sicherer zur Darstellung bringt, als die Chromsilbermethode von Golgi.

Was die topographische Lage des Netzapparates im Inneren des Zelleibes anbelangt, so finden sich interessante Aufschlüsse hierüber in einer Arbeit von Ballowitz (8), dessen im Epithel der Membrana elastica posterior des Auges beschriebenen „Centrophormien“ sehr bald nach ihrer, von Golgis Entdeckung ganz unabhängigen, Beschreibung im Jahre 1900 allgemein als mit dem Netzapparat identische Gebilde erkannt wurden. So ist Ballowitz zu denjenigen Autoren zu rechnen, welche die Binnennetzfrage inaugurierten.

Dieser Forscher sah seine „Centrophormien“, wie er grosse, faserkorbartige Bildungen in seinem Objekte benannte, direkt für Sphärenstrukturen an, da er die Centralkörperchen in ihrem Inneren nachweisen konnte. Hier findet sich nach Platner zum ersten Male die Angabe, dass der Netzapparat topographische Beziehungen zum Centrenapparat besitzen kann.

Dies sprach dann auch Heidenhain (45) aus, dessen Pseudochromosomen, Central- und Gitterkapseln, die er in Samenzellen von Proteus in der Umgebung der Sphäre fand und zunächst als mitochondriale Bildungen ansprach, nachher als lückenhaft dargestellte Binnennetze erkannt wurden (Perroncito). Heidenhain (47) gibt dies neuerdings auch selber zu.

Hierzu möchte ich nebenbei bemerken, dass es mir zweifelhaft erscheint, wohin die „Pseudochromosomen“, die van der Stricht (91) in der Eizelle beschreibt, gehören, dass es mir aber sehr wahrscheinlich dünkt, dass er sowohl wie von Winiwarter (99) in den um den Centrenapparat gruppierten „Spicules“ Binnennetzstrukturen vor Augen hatten.

In den neueren Arbeiten von Perroncito wird auch kurz auf die topographischen Verhältnisse zwischen Centrenapparat und Netzapparat eingegangen. Letzterer wird von diesem Autor in Samenzellen in der Umgebung des Idiozoms angetroffen, dieses soll aber nicht immer das Zentralkörperchen enthalten.

Wenn das Binnennetz auch nicht unbedingt intime Beziehungen zum Cytocentrum zu haben braucht, worauf Golgi (40) auf Grund der Befunde Pensas (70) in Knorpelzellen, in denen der Apparat sich fast durch den ganzen Zelleib erstreckt, hinweist, so ergibt sich doch durch Untersuchungen an embryonalen Zellen, dass es sie haben kann.

Golgi selber (38) bildet es, worauf Heidenhain (47) neuerdings mit Recht hinweist, in Spinalganglienzellen von Rinderembryonen als verhältnismässig kleines, einfaches Knäuel von am Ende aufgetriebenen Fäden, an primärem, dem Cytocentrum entsprechendem Orte (Heidenhain) der Zelle ab. Bei älteren Embryonen breitet es sich dann mehr und mehr um den Kern herum aus.

Ich selber habe in Spinalganglienzellen von älteren Hühnerembryonen ganz entsprechende Bilder gesehen.

Sjövall (89), welcher den Netzapparat als ubiquitär im Embryo beschrieben hat, ist mit Fürst (34) der Ansicht, dass gewisse Beziehungen zur Sphäre bestehen können, dass sich das Netz dann aber, unabhängig von den Centralkörperchen, weiter entwickeln kann. Er fasst es als „konzentrische Differenziation des Zellprotoplasmas“ auf, schreibt den Centralkörperchen der Embryonalzellen, welche eine starke Teilungsenergie aufweisen müssen, einen mechanischen Einfluss auf das umliegende Plasma zu, wie dies Heidenhain behauptet.

In welchem Verhältnis steht nun der Netzapparat zu den Mitochondrien? Ist er mitochondrialer Natur?

Auch über diese Frage sind sich noch nicht alle Autoren einig. So hält ihn z. B Fürst für ein mitochondriales Gebilde. Er gibt an, dass seine Ringe, Ringreihen etc. in den Spinalganglienzellen des Lachses, ebenso wie der Netzapparat, aus Cytomicrosomen (= Mitochondrien) entstanden seien. Sjövall, Golgi (40) und Perroncito sind entgegengesetzter Ansicht.

Über die Frage, ob die Binnennetze zu den chromidialen Strukturen gehören, also direkt aus dem Kern entstanden seien, wie dies einige Autoren der Münchener Zoologenschule (z. B. Goldschmidt [36] und Popoff [77]) behaupten, brauche ich mich hier nicht länger auszulassen, da ich auf die Chromidienfrage schon vorher eingegangen bin.

Über die funktionelle Bedeutung des Netzapparates sind wir noch vollkommen im Dunkeln.

Kölliker (54), welcher die ersten Präparate von Golgi und seinen Schülern auf dem Anatomenkongress in Pavia sah, hielt Beziehungen zur Ernährung für möglich.

Ballowitz beobachtete gelegentlich eine Wanderung seiner Centrophormien auf die andere Seite des Kernes. Er stellte die

Hypothese auf, es könne sich hier um eine „Zellanfrischung“ handeln. Eine solche soll sonst durch Zellteilung bewirkt werden, welche aber in den Zellen der Membrana elastica posterior von erwachsenen Tieren in der Regel ausbleibt. Ich möchte hier schon bemerken, dass ich diese Erklärung für eine nicht beiseite zu schiebende Arbeitshypothese halte, auf welche ich nachher einzugehen gedenke.

Dass der Netzapparat seine Gestalt verändern kann, ist schon länger bekannt.

Von Bergen (17) glaubte sogar, dass er in zyklischer Weise sich auflösen und wieder neu bilden könne. Als Vorstadien betrachtet er diffus im Plasma liegende Körner, welche sich nach der Osmiummethode schwärzen. Diese ordnen sich in Körnchenreihen an, die ihrerseits wieder mit wirklichen Fäden abwechseln können. Auch netzlose Zellen sollen vorkommen. Wenn Sjövall (89) dagegen schreibt, verschiedene Stadien dieses Zyklus beruhten auf mangelhafter Technik, so mag er in mancher Hinsicht nicht Unrecht haben; denn es ist später als Tatsache festgestellt worden, dass es normale Spinalganglienzellen ohne Netzapparat nicht gibt. Dass seine Form aber eine ungemein wechselnde sein kann, ist ebenfalls ausser Frage.

So weist Golgi (40), welcher ihn in den Epithelzellen der Magenschleimhaut speziell untersuchte, darauf hin, dass Orts- und Formveränderungen an ihm zu konstatieren seien, welche mit dem Vorgang der schleimigen Metamorphose in Verbindung stehen.

Golgi erwähnt in dieser Arbeit sein Verhalten in den oberflächlichsten Schichten der Haut von Ammocoetes, in denen ihn Marenghi (61) untersuchte. Dort ist der Apparat ebenfalls an die Funktion gebunden. In denjenigen Zellen, welche viel Schleim enthalten, ist er klein und liegt in der Tiefe der Zelle. Wenn sich das Protoplasma in „Deutoplasma“ umwandelt, reduziert sich zugleich das Binnennetz.

Von Interesse sind hier auch die Angaben von Riquier (81): In den Zellen des Corpus luteum sieht der Netzapparat häufig wie zertrümmert aus. In den sich rückbildenden Zellen schrumpft er zusammen, so dass sein Rest schliesslich nur noch einen Klumpen und einige Trümmer im Protoplasma darstellt.

Ganz ähnliche Erscheinungen beobachtete Marcora ([60], zitiert bei Riquier) in den Ursprungszellen des Hypoglossus,

nach Durchschneidung dieses Nerven. Auch Perroncito (73) hebt das „proteusartige" Verhalten des Binnennetzes hervor. Seine Untersuchungen gipfeln in dem Satz: „Nach unseren jetzigen Kenntnissen glaube ich sagen zu können, dass das Golgische Binnennetz ein wesentlicher Bestandteil der Zelle mit eigenen, deutlichen, lebhaften, typischen, biologischen Funktionen ist, und dass in ihm früher als im Kern die Zellteilungsvorgänge beginnen. Es nimmt zweifellos in der Physiologie der Zelle einen hervorragenden Platz ein."

Zum Schluss dieser Literaturübersicht, welche, ohne Anspruch auf Vollständigkeit zu machen, nur die wesentlichsten Punkte hervorheben soll, gebe ich eine Bemerkung aus einer in letzter Zeit erschienenen Abhandlung von Deineka (25) wieder, welche besagt, dass die polare Lagerung des Netzapparates mit dem Alter der Zelle in eine circumnukleäre übergehe. Durch diesen Umstand werde vielleicht die circumnukleäre Anordnung des Netzapparates in Nervenzellen Erwachsener erklärt. Die gleiche Lage zeige der Apparat in den Zellen der oberen Schichten des mehrschichtigen Pflasterepithels, „die die Teilungsfähigkeit verloren haben".

Hier wird also wieder die Lage des Netzapparates gewisser Zellen mit deren Unfähigkeit, sich zu teilen, in Verbindung gebracht, ein Gedankengang, den schon Ballowitz (8) hervorhebt, und auf den ich nachher bei der Diskussion meiner eigenen Befunde eingehen werde.

Die Hauptfragen, die sich aus dieser Literaturübersicht ergeben, kann man folgendermassen präzisieren:

1. In welchen Beziehungen steht der innere Netzapparat zum Centrenapparat?

2. In welchen Beziehungen steht er zu den Mitochondrien?

3. In welcher Beziehung steht er zu der Funktion?

Nach diesen drei Fragen richteten sich meine Untersuchungen an der Urgeschlechtszelle des 3—4 Tage gebrüteten Hühnerembryos, über deren Ergebnisse ich nun berichten werde.

Zunächst möchte ich bemerken, dass ich seine Ubiquität im embryonalen Gewebe bestätigen zu können glaube. In denjenigen Partien des Embryos, in denen die Imprägnation mit arsensaurem Silber einwandfrei gelungen war, ist er in jeder Zelle, soweit diese ganz im Schnitt liegt, zu sehen. Er scheint

stets im Radius vector der Zelle (Heidenhain), dort wo die Lage der Centralkörperchen ist, zu liegen, so z. B. in den Zellen des Cölomepithels in oder an der Grenze der vorhin beschriebenen Zellkuppe.

Merkwürdigerweise fand ich ihn zuerst in Schnitten durch einen Embryo, welcher nach Benda fixiert und nachchromiert und mit Eisenalizarin-Kristallviolett gefärbt war. In diesem Embryo war das Fixierungsmittel nicht gut durchgedrungen, wie es bei dieser Methode leider sehr oft vorkommt. Infolgedessen befanden sich die Urgeschlechtszellen im Zustande der Cytolyse. Der Kern trat sehr deutlich hervor. Das Plasma machte einen faserigen Eindruck und hatte sich zum Teil von der Peripherie der Zelle zurückgezogen. Die Mitochondrien waren nicht gefärbt, dagegen hatte der Netzapparat das Kristallviolett aufgenommen und trat ungemein deutlich hervor. Er erschien als ein Konvolut von wenigen, verhältnismässig dicken Fäden, welche aus linear aneinander gereihten Körnern bestanden.

Ich erwähne diesen Befund, welcher demjenigen in gut fixierten Zellen absolut nicht entspricht, nur, weil er als ein kleiner Beitrag zur Kenntnis der Erscheinungen der Cytolyse dienen mag, auf deren Interesse für die Ergründung von Plasmastrukturen jüngst Retzius (80) hinwies.

In nach Benda fixierten und nachchromierten und mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten kommt das Binnennetz gelegentlich in sehr feiner und typischer Weise zur Darstellung. Dabei hängt alles von dem Grade der Differenzierung mit der Eisenalaunlösung ab: Bei zu kurzer Behandlung tritt der Apparat in der zum Teil diffus gefärbten Plasmastruktur nicht hervor, bei zu lange währender Ausziehung blasst er sehr schnell ab, viel schneller als die Mitochondrien.

Die Lage, die er in der Zelle gewöhnlich einnimmt, entspricht dem „primären Orte“ Heidenhains. Gewöhnlich stellt er ein Konvolut von feinen, nie in Körner aufzulösenden Fäden dar, welche teils miteinander in netzförmiger Verbindung stehen, gelegentlich aber auch mit ihren freien Enden in das umgebende Protoplasma hineinragen. Die Dicke der Fäden ist verschieden. Ist das Fadengewirr verhältnismässig dicht, so kann man in ihm die Centralkörper gewöhnlich nicht mit Sicherheit erkennen, da die optischen Querschnitte und freien Enden der Fäden punkt-

förmige Gebilde vortäuschen können. Zu dieser Konfiguration bitte ich, Fig. 5 zu betrachten.

Häufig ist das Binnennetz ein runder oder ovaler, etwas dickerer Ring, von dem ausgehend sehr feine Fäden in rundem Bogen zu dem gegenüberliegenden Teile des Ringes hinziehen. Bei derartiger Konfiguration treten gewöhnlich die Centralkörperchen deutlich hervor (Fig. 4).

Auch in nach Benda gefärbten Präparaten kann man die Binnennetze gelegentlich sehen. Es ist mir allerdings zweifelhaft, ob sie sich, wenn man die Differenzierung genau nach Bendas Vorschrift vornimmt, mit dem Kristallviolett tingieren, wie Perroncito (70, 71) behauptet; denn in Schnitten, bei denen die Behandlung mit Essigsäure soweit getrieben war, dass das Kernchromatin rotbraun erschien und nur die Mitochondrien den violetten Ton behalten hatten, habe ich den Netzapparat nie gefunden. Dass die Hermannschen „Archoplasmaschleifen“ sich bei dieser Methode violett färben, bestreitet übrigens Benda (13) selbst ausdrücklich.

Auf Fig. 8, welche nach einer Zelle gezeichnet ist, in der die Hauptmasse des Chromatins bei der Differenzierung noch nicht den Alizarinton angenommen hatte, sind die Centralkörper von einem violetten Ring umgeben, welcher dem in Fig. 4 entsprechen dürfte, nur dass die feineren Fädchen nicht zur Darstellung gebracht sind. Dieses Bild könnte einem ein Idiozom vortäuschen, dessen Randschicht den violetten Farbstoff noch zurückbehalten hat, wie Duesberg (26) es gelegentlich abbildet. Dies ist hier aber ausgeschlossen, da sich bei anderen Fixierungen, wie ich vorher schon hervorhob, nie eine idiozomartige Bildung in den Urgeschlechtszellen findet.

Ich bin der Ansicht, dass die Fixierung mit dem nach Benda modifizierten Flemmingschen Gemisch, wenn sie gut gelingt, das Binnennetz in lückenloser Form erhalten kann. Auch Platner erhielt ja seine schönen Ergebnisse an ähnlich fixierten Objekten.

Dass der Netzapparat dann ein anderes Aussehen zu haben scheint als in imprägnierten Präparaten, wird wohl daher kommen, dass die feinsten Fäden entweder nicht gefärbt zur Anschauung kommen oder aber unter der Grenze der Auflösungsfähigkeit unserer Immersionen liegen. Dies mag auch der Grund sein,

weshalb mit dieser Methode die Netze in anderen Embryonalzellen, welche, selbst imprägniert, recht zart sind, nicht zu sehen waren. Jedenfalls sollte man auch in dieser Frage, soweit es möglich ist, den gefärbten Präparaten vor den imprägnierten den Vorzug geben, da eine Imprägnation, genau genommen, immer ein Kunstprodukt sein muss, wenn auch auf natürlicher Grundlage und nach stets wiederkehrenden Regeln.

Dass die soeben von mir geschilderten Fasernetze Netzapparate sind, wurde durch Befunde am imprägnierten Objekt bestätigt.

In der Mehrzahl der Fälle sieht man in der Zellgegend, in welcher die Centralkörper zu liegen pflegen, eine aus grösstenteils recht dicken, nach Vergoldung tiefschwarzen, ohne dieselbe dunkelbraunen, anastomosierenden Fasern bestehende, meistens geschlossene Gitterkapsel. Die Fasern sind häufig kurze Strecken weit nach aussen vorgebuchtet, so dass man bei flüchtiger Betrachtung zuweilen knotige Verdickungen zu sehen glaubt. Die Dicke der Fäden ist verschieden (vergl. Fig. 11).

Die Binnennetze anderer Gewebszellen sind erheblich zarter und treten meistens in Ringform auf. Fig. 17 zeigt ein solches Netz in einer Blutzelle aus der Aorta

Die Gestalt des Netzapparates, wie man sie in Fig. 11 erblickt, trifft man aber lange nicht in allen Urgeschlechtszellen an, sondern man findet, oft zu mehreren in einem Gesichtsfeld, Bilder, welche auf Teilungen, teilweise Aufsplitterungen und Auflösung von Binnennetzteilen schliessen lassen.

Fig. 12 zeigt eine Teilung des Netzapparates, in Fig. 13 ist dieser in zwei etwa gleich grosse Teilstücke zerfallen, von denen das eine ungefähr an typischer Stelle liegt, während das andere mehr um den Kern herum zu rücken scheint. Fig. 14 und 15 spreche ich als weiter fortgeschrittene Stadien ähnlicher Art an. In beiden, ebenso wie in den zwei vorhergehenden Figuren, sieht man grosse, tropfenförmige Gebilde, welche zweifellos vom Binnennetz stammen, da sie oft mit diesem noch in Verbindung stehen (z. B. in Fig. 12). Auch richtige Ringbildungen kommen vor.

Dass es sich bei diesen Erscheinungen um durch unvollständige Imprägnation vorgetäuschte Bilder handelt, halte ich deswegen für ausgeschlossen, weil sie eine gewisse Regelmässigkeit

zeigen und in denselben Schnitten neben Konfigurationen, wie ich sie in Fig. 11 abbildete, anzutreffen sind.

Als Vorbereitungsstadien für Zellteilung können sie nicht in Betracht kommen, weil sie im Verhältnis zu den ausserordentlich seltenen Mitosen von Urgeschlechtszellen viel zu häufig sind.

Schwerer beiseite zu schieben ist der Einwand, dass es sich um zugrunde gehende Zellen handeln könne. Riquier (81) und Marcora (60) beschreiben ja ähnliche „Zertrümmerungen“ des Netzapparates in dem Untergang geweihten Zellen. Sollte es sich hier um allmählich einsetzende Rückbildungserscheinungen handeln, die erst später zum Zelltode führen, so wäre damit dennoch für die Behauptung von Winiwarter und Sainmont (100), die sogenannten Urgeschlechtszellen seien hypertrophierte Gebilde, welche zu baldigem Untergang bestimmt seien, und keine Stammzellen der Geschlechtszellen, kein Beweis erbracht. Auch die Ei- und Samenzellen gehen später ja in grosser Zahl zugrunde. Der Gedanke ist nicht von der Hand zu weisen, dass auch schon viele ihrer Vorfahren ausgemerzt werden. Es könnte sich hier vielleicht um eine frühzeitige Auslese handeln, bedingt durch das Milieu, in dem die Urgeschlechtszellen existieren. Ich möchte mich der Erklärung, der „zertrümmerte“ Netzapparat sei auch in unserem Falle ein Anzeichen des baldigst bevorstehenden Zelltodes, einstweilen noch nicht anschliessen, sondern vielmehr die Ansicht vertreten, dass die soeben beschriebenen Erscheinungen in dem überhaupt „proteusartigen“ (Perroncito [73]) Verhalten des inneren Netzapparates ihren Grund haben und durch Beziehungen zum Ausbleiben der Zellteilungen erklärt werden können.

Der Meinung Deinekas (25), dass das Binnennetz in der Mehrzahl der Fälle in einem relativen Verhältnis zur Zellgrösse steht, kann ich nur beipflichten, wenn sie nicht zum allgemeinen Gesetz ausgedehnt wird. Ich bitte, hierzu nur Fig. 11, welche eine Urgeschlechtszelle darstellt, mit Fig. 17, die eine Blutzelle wiedergibt, zu vergleichen. In der letzteren ist das Verhältnis zwischen Zellgrösse und Binnennetzgrösse ein ganz anderes, als in Fig. 11.

Dass der Netzapparat aber mit dem Volumwachstum der Zelle graduell wächst und sich kompliziert, wie Perroncito bei Spermiocyten behauptet, halte ich, wenigstens bei der ge-

schlossenen Form des Binnennetzes, für wohl möglich. Fig. 16 zeigt eine Urgeschlechtszelle, welche zu einer Riesenzelle, von der ich vorhin schon sprach, herangewachsen ist. In ihr ist der grösstenteils geschlossene Netzapparat ebenfalls erheblich viel grösser geworden.

Nachdem ich meine Befunde beschrieben habe, will ich versuchen, die vorhin präzisierten Fragen, welche momentan besonders zur Diskussion stehen, daran zu prüfen.

Dass die Centralkörperchen in der Regel im Inneren des Netzapparates liegen, geht sowohl aus seiner gewöhnlichen Lage im „Radius vector“ der Zelle (Heidenhain), als auch aus den mit Eisenhämatoxylin und mit Eisenalizarin-Kristallviolett gefärbten Präparaten hervor. Ob die Centralkörperchen bei Zerfall des Binnennetzes in zwei Teile in demjenigen Teilstück bleiben, welches seine Lage im Radius vector beibehält, oder aber, ob einer von ihnen mit dem anderen Teil fortrückt, kann ich nicht entscheiden. Dass die Sphäre, und, wenn ich ihn recht verstehe, mit ihr das Cytocentrum, in den sich nicht mehr teilenden Zellen wandern kann, wissen wir von Ballowitz (8). Trotzdem möchte ich die zuerst formulierte Auffassung für die wahrscheinlichere halten, denn das fortrückende Teilstück scheint sich, wie aus meinen Präparaten erhellt, später aufzusplittern und im Plasma aufzulösen.

Dass in anderen embryonalen Zellen der Netzapparat das Cytocentrum einschliesst, halte ich für sicher. Damit glaube ich, mich denjenigen Autoren anschliessen zu sollen, welche der Ansicht sind, dass das Binnennetz, wenigstens in solchen Zellen, welche jung und hochgradig teilungsfähig sind, resp. an einem späteren Zeitpunkt starke Teilungsfähigkeit manifestieren, wie in unserem Objekt, ursprünglich intime topographische Beziehungen zum Cytocentrum besitzt, sich dann später aber unabhängig von diesem weiter entwickeln kann. Dass die Centralkörperchen auch während der Zellruhe stets einen mechanischen Einfluss auf das Protoplasma ausüben (vergl. Heidenhain und Sjövall), scheint mir nicht genügend erwiesen zu sein. Man müsste dann doch wohl stets eine strahlig gebaute Sphäre finden, welche in den Urgeschlechtszellen, wie ich mit Sicherheit sagen kann, nicht existiert.

Was die Frage anbelangt, in welchen Beziehungen der Netzapparat zu den Mitochondrien steht, so schliesse ich mich

der Meinung Golgis, Perroncitos und vieler anderen an, welche besagt, dass Binnennetz und mitochondriale Bildungen streng auseinander zu halten sind. Denn beide Strukturelemente lassen sich in der Urgeschlechtszelle bei allen Methoden, die ich anwandte, in der Regel wohl unterscheiden. Mit der Golgi-Methode habe ich sie nie zu Gesicht bekommen, bei der Färbung nach Benda und mit Eisenhämatoxylin verschwinden die Netzapparate, wenn man die Differenzierung so weit treibt, dass ausschliesslich eine elektive Mitochondrienfärbung vorliegt. Dass die Chondriosomen häufig in der Gegend des Binnennetzes in grösserer Anzahl vorhanden sind, erkläre ich mir so, dass dieses eben in der Mitte des breitesten Teiles des den Kern umgebenden Plasmamantels liegt, welcher dort also die meisten Mitochondrien beherbergt, vorausgesetzt, dass diese, wie in unserem Objekt, gleichmässig im Protoplasma verteilt sind.

Was die Beziehungen zur Zellfunktion anbelangt, so wird die Untersuchung dieses Punktes bei den Urgeschlechtszellen dadurch erschwert, dass man nicht recht weiss, ob man es bei Ausbreitung und Aufsplitterung des Netzapparates mit Rückbildungserscheinungen zu tun hat, oder mit Phänomenen, in welchen irgendwelche Stoffumsetzungen zum Ausdruck kommen. Nehmen wir das letztere an, so kann man die Ausbreitungserscheinungen des Binnennetzes in Zellen, welche sich nicht teilen, wie z. B. in den Nervenzellen und den oberflächlichsten Zellen des Pflasterepithels (Deineka), zum Vergleich heranziehen und die Hypothese aufstellen, dass wir es mit einer „Zellanfrischung" (Ballowitz) zu tun haben, welche für die bei der Zellteilung zu postulierenden Stoffumsetzungen vikariierend einspringen. So könnte man dann überhaupt eine Erklärung für die merkwürdige Tatsache zu geben suchen, dass sich das Binnennetz in ausgewachsenen Zellen, deren Teilungsfähigkeit beschränkt ist, durch den ganzen Zelleib ausbreitet, während es in Embryonalzellen und z. B. auch in Zylinderepithelzellen (vergl. von Bergen) ein kleineres, mehr kompaktes Gebilde darstellt.

Zum Schlusse dieses Kapitels möchte ich noch einmal auf die „Keimbahnchromidien" mancher Wirbelloser zurückkommen und mir die Bemerkung erlauben, dass wahrscheinlich manches darunter einbegriffen wird, was in Beziehung zu Binnennetzstrukturen gebracht werden kann. Da die Keimbahnzellen sehr

oft lange Zeit hindurch nicht in Teilung treten, halte ich es für möglich, dass Hand in Hand damit auch dem Netzapparat entsprechende Strukturen typische Erscheinungen werden zeigen können.

So hat z. B. der „wurstförmige Körper“ bei Chironomus nach den Zeichnungen von Hasper (43) eine grosse Ähnlichkeit mit dem Netzapparat. Jedoch kann diese Frage nur vermittelst genauer, auf die Hilfsmittel der modernen mikroskopischen Technik basierter Untersuchungen entschieden werden.

V. Zusammenfassung und Schluss.

Die „Urgeschlechtszellen“ des Huhnes wandern nicht durch amöboide Bewegung, sondern sie gelangen am 3. und 4. Bebrütungstage dadurch in den Genitalbezirk, dass sie mit einem grösseren Komplex der Visceralplatte des Mesoderms, infolge des Schlusses der Darmrinne und der Bildung des Mesenteriums, um den Cölomwinkel herum geschoben werden.

Der Beweis, dass die „Urgeschlechtszellen“ die Stammzellen der Ei- und Samenzellen sind, lässt sich durch cytologische Analyse nicht erbringen. Auch sonst ist dieser Beweis in vollkommen einwandfreier Weise noch nicht erbracht worden.

Da die Urgeschlechtszellen am 3. und 4. Bebrütungstage keine Funktion haben und sich, in der Regel, nicht teilen, sind sie ein vorzügliches Objekt für die Untersuchung der Kern- und Plasmastrukturen.

Das Verhältnis zwischen Chromatingehalt und Zellgrösse ist ungefähr das gleiche wie in anderen Embryonalzellen. Die Punkte, in denen die Urgeschlechtszellen sich ausserdem von diesen morphologisch unterscheiden, sind nicht prinzipieller Natur, sondern können aus dem Mangel an Funktion und dem Ausbleiben der Zellteilung erklärt werden.

Dazu gehört: dass man sehr häufig Anzeichen dafür findet, dass die Chromosomen erhalten sind, ferner die Rotfärbung des ganzen Kernes vermittelst des Ehrlich-Biondischen Farbgemisches.

Auch die Eigentümlichkeiten des Netzapparates, welcher im Vergleich zu den anderen Embryonalzellen eine ausserordentlich

starke Ausbildung zeigt und sich sehr häufig, allerdings in nicht immer zusammenhängenden Portionen, durch den ganzen Zellleib verteilt, könnten in der Zellgrösse, in dem Mangel an Funktion und in dem Ausbleiben von Zellteilung ihre Erklärung finden.

Literaturverzeichnis.

1. Allen, B. M.: The Embryonic development of the ovary and testis of the Mammals. Amer. Journ. Anat., Vol. 3, 1904.
2. Derselbe: The origin of the sex-cells of Chrysemis. Anat. Anz., Bd. 29, 1906.
3. Derselbe: An important Period in the history of the sex-cells of Rana pipiens. Anat. Anz., Bd. 31, 1907.
4. Derselbe: The origin of the sex-cells of Amia and Lepidosteus. Anat. Rec., Vol. 3, 1909.
5. Amma, K.: Über die Differenzierung der Keimbahnzellen bei den Copepoden. Arch. f. Zellforschung, Bd. 6, 1911.
6. Balbiani, E. G.: Kontribution à l'étude de la formation des organes sexuelles chez les insects. Rec. zool. Suisse, T. 2, 1885.
7. Balfour: On the strukture and development of Vertebrate ovary. Quart. Journ. Micr. Sc., Vol. 18, 1878.
8. Ballowitz, E.: Über das Epithel der Membrana elastica posterior des Auges, seine Kerne und eine merkwürdige Struktur seiner grossen Zellsphären. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 56, 1900.
9. Beard, J.: The morphological continuity of the germ.-cells in Raja batis. Anat. Anz., Bd. 18, 1900.
10. Derselbe: The germ-cells of Pristiurus. Anat. Anz., Bd. 21, 1902.
11. Derselbe: The numerical law of the germ-cells. Anat. Anz., Bd. 21, 1902.
12. Derselbe: The germ-cells. Part. 1. Journ. Anat. and Physiol., Vol. 38, 1904.
13. Benda, C.: Die Mitochondria. Ergebn. d. Anat. u. Entw., Bd. 12, 1902.
14. Derselbe: Die Färbung der Mitochondria. Encyklopädie der mikroskopischen Technik. Neue Auflage.
15. v. Berenberg-Gossler, H.: Über gitterkapselartige Bildungen in den Urgeschlechtszellen von Vogelembryonen. Vorl. Mitt. Anat. Anz., Bd. 40, 1912.
16. Derselbe: Demonstrationsbericht. Verh. d. Anat. Gesellsch. München, 1912.
17. v. Bergen, Fr.: Zur Kenntnis gewisser Strukturbilder („Netzapparate", „Saftkanälchen", „Trophospongien") im Protoplasma verschiedener Zellenarten. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 64, 1904.
18. Born, G.: Die Struktur des Keimbläschens im Ovarialei von Triton taeniatus. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 43, 1894.
19. Boveri, Th.: Über Differenzierung der Zellkerne während der Furchung des Eies von Ascaris megalocephala. Anat. Anz., Bd. 2, 1887.

20. Boveri, Th.: Zellenstudien II. Die Befruchtung und Teilung des Eies von Ascaris megalocephala. Jena 1888.
21. Derselbe: Die Entwicklung von Ascaris megalocephala, mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschr. f. C. v. Kupfer, Jena 1899.
22. Buchner, P.: Die Schicksale des Keimplasmas der Sagitten in Reifung, Befruchtung, Keimbahn, Ovogenese und Spermatogenese. Festschr. f. R. Hertwig, Jena 1910
23. Child: The development of germ-cells from differentiated somatic cells in Monieza. Anat. Anz., Bd. 29, 1906.
24. Dantschakoff, V.: Über Herstellung von Celloidinserien. Zeitschr. f. wiss. Mikr., 1908.
25. Deineka, D.: Der Netzapparat von Golgi in einigen Epithel- und Bindegewebszellen während der Ruhe und während der Teilung derselben. Anat. Anz., Bd. 41, 1912.
26. Duesberg, J.: Der Mitochondrialapparat in den Zellen der Wirbeltiere und Wirbellosen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 71, 1908.
27. Derselbe: Sur la continuité des éléments mitochondriaux des cellules sexuelles et des chondriosomes des cellules embryonnaires. Anat. Anz., Bd. 35, 1910.
28. Eigenmann, C. H.: On the precocious segregation of the sex-cells in Cymatogaster aggregatus Gibbons. Journ. Morphol., Vol. 5, 1892.
29. Derselbe: Sex-differentiation in the viviparous Teleost Cymatogaster. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 4, 1897.
30. Fedorow, V.: Über die Wanderung der Genitalzellen bei Salmo fario. Anat. Anz., Bd. 37, 1907.
31. Felix, W.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Salmoniden. Anat. Hefte, Bd. 8, 1897.
32. Derselbe: Die Entwicklung der Keimdrüsen und ihrer Ausführungsgänge. Handb. d. Entw. von O. Hertwig, 1906.
33. Fick, R.: Vererbungsfrage, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastardregeln. Ergebn. d. Anat. u. Entw., Bd. 16, 1906.
34. Fürst, C. M.: Ringe, Ringreihen, Fäden und Knäuel in den Kopf- und Spinalganglienzellen beim Lachse. Anat. Hefte, Bd. 19, 1902.
35. Fuss, A.: Über extraregionäre Geschlechtszellen bei einem menschlichen Embryo von vier Wochen. Anat. Anz., Bd. 39, 1911.
36. Goldschmidt, R.: Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zoolog. Jahrb. f. Anat. u. Ont., Bd. 21, 1904.
37. Golgi, C.: Sur la structure des cellules nerveuses. Arch. Ital. Biol. T. 30, 1898.
38. Derselbe: De nouveau sur la structure des cellules nerveuses des ganglions spinaux. Arch. Ital. Biol., T. 31, 1899.
39. Derselbe: Une méthode pour la prompte et facile démonstration de l'appareil réticulaire interne des cellules nerveuses. Arch. Ital. Biol., T. 49, 1908.
40. Derselbe: Sur une fine particularité de structure de l'épithélium de la muqueuse gastrique et intestinale de quelques Vertébrés. Arch. Ital. Biol., T. 51, 1909.

41. Haecker, V.: Über die Selbständigkeit der väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz während der Embryonalentwicklung von Cyclops. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 46, 1895.
42. Derselbe: Die Keimbahn von Cyclops. Neue Beiträge zur Kenntnis der Geschlechtszellensonderung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 49, 1897.
43 Hasper, M.: Zur Entwicklung der Geschlechtsorgane von Chironomus. Zoolog. Jahrb. f. Anat. u. Ont., Bd. 31, 1911.
44. Heidenhain, M. und Cohn, Th.: Über die Mikrozentren in den Geweben des Vogelembryos, insbesondere über die Cylinderzellen und ihr Verhältnis zum Spannungsgesetz. Morphol. Arb., Bd. 7, 1896.
45. Heidenhain, M.: Über die Zentralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus, sowie über ihr Verhältnis zu den Idiozomen, Chondriomiten und Archoplasmaschleifen. Anat. Anz., Bd. 18, 1900.
46. Derselbe: Plasma und Zelle, Bd. 1, Jena 1907.
47. Derselbe: Verh. d. anat. Ges. zu München, 1912.
48. Hermann, F.: Beitrag zur Lehre von der Entstehung der karyokinetischen Spindel. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 37, 1891.
49. Hertwig, O.: Allgemeine Biologie. Jena 1909.
50. Hoffmann, C. K.: Étude sur le dévéloppement de l'appareil urogénitale des oiseaux. Verh. kon. Ak. d. Wetensch., Amsterdam 1892.
51. Jarvis, M.: The segregation of the germ-cells of Phrynosoma cornutum. Biol. Bull. of the Mar. Biol. Lab. Woods. Holl. Mass., Vol. 15, 1908.
52. Kahle, W: Die Pädogenese der Cecidomyiden. Zoologica, H. 55, 1908.
53. King, H. D: The oogenesis of Bufo lentiginosus. Journ. Morph., Vol. 19, 1908.
54. Kölliker, A.: Kurzer Bericht über den anatomischen Kongress zu Pavia 1910. Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg, N. F., Bd. 34, 1900.
55. Kopsch, Fr.: Die Darstellung des Binnennetzes in spinalen Ganglienzellen und anderen Körperzellen mittelst Osmiumsäure. Sitz. kgl. preuss. Ak. Wiss., Bd. 60, 1902.
56. Kuschakewitsch, S.: Die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von Rana esculenta, ein Beitrag zum Sexualitätsproblem. Festschr. f. R. Hertwig, Jena 1910.
57. v. la Valette St. George: Über die Genese der Samenkörper. 2. Mitteilung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 3, 1867.
58. Lilienfeld, L.: Über die Wahlverwandtschaft der Zellelemente zu gewissen Farbstoffen. Dubois-Reymonds Arch., Jahrg. 1893.
59. Magnus: Zellchemie. In Encyklopädie der mikroskopischen Technik, neue Auflage.
60. Marcora: Dinna fine alterazione delle cellules nervoses del nucleo d'origine del grande Jpoglosso consecutiva alla strappamento ed al taglio de nervo. Boll. Soc. med. chir., Pavia 1908.
61. Marenghi, G.: Alcune particolarita di struttura e di innervazione della cute dell' Ammocoetes branchialis. Mem. R. Jst. Lomb., 1903.

62. Meves, Fr.: Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 48, 1897.
63. Derselbe: Über den von la Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 56, 1900.
64. Derselbe: Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 72, 1908.
65. v. Mihalkovics, G.: Untersuchung über die Entwicklung des Harn- und Geschlechtsapparates der Amnioten. III. Die Geschlechtsdrüse. Intern. Monatsschr. f. Anat. u. Histol., Bd. 2. 1885.
66. Minot, Ch. S.: Gegen das Gonotom. Anat. Anz., Bd. 9, 1894.
67. Nussbaum, M.: Zur Differenzierung des Geschlechts im Tierreich. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 18, 1880.
68. Derselbe: Zur Entwicklung des Geschlechts beim Huhn. Verh Anat. Ges. zu Bonn 1901.
69. Pensa, A.: Sopra una fina particolarita di struttura di alcune cellule della capsule soprarenali. Boll. Soc. med., Pavia 1899.
70. Derselbe: Osservazioni sulla struttura delle cellule cartilagine. Boll. Soc. med.. Pavia 1901.
71. Perroncito, A.: Contributo allo studio della Biologia cellulare. Mitochondri, Chromidii e Apparato reticolare interno nelle cellule spermatiche. Reale Accad. dei Lincei., Roma 1910.
72. Derselbe: Contribution à l'étude de la biologie cellulaire. Arch. Ital. Biol., T. 54, 1910.
73. Derselbe: Beiträge zur Biologie der Zelle. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, 1911.
74. Platner, G.: Über die Spermatogenese bei den Pulmonaten. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 25, 1885.
75. Derselbe: Über die Entstehung des Nebenkerns und seine Beziehung zur Kernteilung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 26, 1886.
76. Derselbe: Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Teilungserscheinungen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 33, 1889.
77. Popoff, M.: Zur Frage der Homologisierung des Binnennetzes der Ganglienzellen mit den Chromidien der Geschlechtszellen. Anat. Anz., Bd. 29, 1906.
78. Prenant, A.: Les mitochondries et l'ergastoplasme. Journ. Anat. et Physiol., T. 47, 1910.
79. Rabl, C.: Über „organbildende Substanzen" und ihre Bedeutung für die Vererbung. Leipzig 1906.
80. Retzius, G.: Biologische Untersuchungen. Neue Folge, Bd. 16.
81. Riquier, T. K.: Der innere Netzapparat in den Zellen des Corpus luteum. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 75, 1910.
82. Ritter, R.: Die Entwicklung der Geschlechtsorgane und des Darmes bei Chironomus. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 50, 1890.
83. Rubaschkin, W.: Über das erste Auftreten und Migration der Keimzellen bei Vögelembryonen. Anat. Hefte, Bd. 35, 1907.

84. Rubaschkin, W.: Über die Urgeschlechtszellen bei Säugetieren. Anat. Hefte, Bd. 39, 1909.
85. Derselbe: Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anat. Hefte, Bd. 41, 1910.
86. Rückert, J.: Über das Selbständigbleiben der väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz während der ersten Entwicklung des befruchteten Cyklopseies. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 45, 1895.
87. Schapitz, R.: Die Urgeschlechtszellen von Amblystoma. Ein Beitrag zur Kenntnis der Keimbahn der urodelen Amphibien. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, 1912.
88. Semper, C.: Das Urogenitalsystem der Plagiostomen und seine Bedeutung für dasjenige der übrigen Wirbeltiere. Arb. zool.-zoot. Inst., Würzburg 1875.
89. Sjövall, E.: Über Spinalganglienzellen und Markscheiden. Anat. Hefte, Heft 91, 1906.
90. van der Stricht, O.: La structure de l'oeuf des Mammifères II. Structure de l'oeuf ovarique de la femme. Bull. Acad. Med. Belg. 1905.
91. Derselbe: Vitellogenèse dans l'ovule de chatte. Arch. Biol., T. 26, 1911.
92. Tschaschin, S.: Über die Chondriosomen der Urgeschlechtszellen bei Vögelembryonen. Anat. Anz., Bd. 37, 1910.
93. Unna, P. G.: Das Geheimnis des Methylgrüns. Dermatologische Studien, Bd. 22, 1912.
94. Waldeyer, W.: Eierstock und Ei. Leipzig 1870.
95. Derselbe: Die Geschlechtszellen. Im Handb. d. Entw. von O. Hertwig, 1906.
96. Weismann und Jshikawa: Über die Parakopulation im Daphnidenei, sowie über Reifung und Befruchtung desselben. Zool. Jahrb. Anat., Bd. 4, 1889.
97. Weismann, A.: Vorträge über Descendenztheorie. Jena 1902.
98. Wheeler, W. M.: The development of the urogenital organs of the Lamprey. Zool. Jahrb. Anat., Bd. 13, 1900.
99. v. Winiwarter, H.: Recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères. Arch. Biol., T. 17, 1901.
100. Derselbe und Sainmont: Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères (chat). Arch. Biol., T. 24, 1908.
101. Woods, F. A.: Origine and migration of the germ-cells in Acanthias. Amer. Journ. Anat., Vol. 1, 1902.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel III.

Sämtliche Figuren wurden mit einem Abbéschen Zeichenapparat in Arbeitstischhöhe entworfen, unter Benutzung eines Zeissschen Mikroskops, Apochromat, Immersion 2 mm, Kompensations-Okular 12. Genauere Erklärungen der Figuren im Text.

Allgemeine Bezeichnungen:
Uz = Urgeschlechtszelle. N = Netzapparat. C = Centralkörperchen.

Fig. 1. Teil eines Schnittes durch das viscerale Blatt des Mesoderms eines Hühnerembryos. Alter: Mitte des 3. Tages. Fixierung: modifiziertes Hermannsches Gemisch, 6 Tage. Einbettung: Celloidin-Paraffin. Schnittdicke: 5 μ. Färbung: Eisenhämatoxylin.

Fig. 2 und 3. Urgeschlechtszellen von einem Hühnerembryo. Alter: Mitte des 3. Tages (ca. 28 Ursegmente). Fixierung: Zenker-Formol. Einbettung: Celloidin-Paraffin. Schnittdicke: $7^1/_2$ μ. Färbung: Eisenhämatoxylin.

Fig. 4 und 5. Urgeschlechtszellen von einem Entenembryo. Alter: 110 Stunden. Fixierung: Flemmingsche Lösung, nach Benda modifiziert, 8 Tage. Nachchromierung nach Benda. Einbettung: Paraffin. Schnittdicke: 6 μ. Färbung: Eisenhämatoxylin, nach vorhergegangener Bleichung nach Pal.

Fig. 6. Teil eines Schnittes durch einen Hühnerembryo. Gegend medial vom Wolffschen Körper. Alter: 72 Stunden. Fixierung: Sublimat-Eisessig. Einbettung: Paraffin. Schnittdicke: 5 μ. Färbung: Ehrlich-Biondi.

Fig. 7. Teil eines Schnittes durch einen Hühnerembryo. Gegend des Cölomwinkels, dort, wo parietales und viscerales Mesoderm ineinander übergehen. Alter: 73 Stunden. Fixierung: Wässrige Sublimatlösung, 4%, frisch angesetzt. Einbettung: Paraffin. Schnittdicke: 5 μ. Färbung: Ehrlich-Biondi.

Fig. 8 und 9. Urgeschlechtszellen eines Hühnerembryos. Alter: Mitte des 3. Tages (ca. 29 Ursegmente). Fixierung und Nachchromierung nach Benda. Einbettung: Paraffin. Schnittdicke: 4 μ. Färbung: Eisenalizarin-Kristallviolett.

Fig. 10. Urgeschlechtszelle eines Entenembryos. Alter: 80 Stunden (ca. 36 Ursegmente). Fixierung: Nachchromierung, Einbettung, Schnittdicke und Färbung wie Fig. 8 und 9.

Fig. 11—16. Urgeschlechtszellen eines Hühnerembryos. Alter: Anfang der 2. Hälfte des 3. Tages. Fixierung und Imprägnation mit arsensaurem Silber nach Golgi. Einbettung: Paraffin. Schnittdicke: 5 μ. Nachvergoldung und Bleichung nach Veratti. Nachfärbung: Karmalaun.

Fig. 17. Blutzelle aus der Aorta desselben Embryos. Dieselbe Technik.

Über die stäbchenförmigen Zentralkörperchen bei den Insekten.

Von

Dr. med. **S. Tschassownikow**,

Professor der Histologie an der kaiserlichen Universität zu Tomsk.

Hierzu Tafel IV und V.

Seit der Entdeckung der Zentralkörperchen Ende der 70er Jahre des vorigen Jahrhunderts schenkten die Histologen diesen Gebilden eine besondere Aufmerksamkeit. Die vielfachen Forschungen führten zu der Schlussfolgerung, dass die Zentralkörperchen oder Centrosomen nicht minder wichtige Teile der Zellen sind, als das Protoplasma und der Kern, und dass sie, so gesagt, die Seele der Zelle darstellen, welche verschiedene Lebenserscheinungen leitet. So sind z. B. die Zentralkörperchen nach der jetzt allgemein angenommenen Lehre von van Beneden und Boveri vor allem Vermehrungsorgane, indem sie in dieser Hinsicht „dynamische Centren" bilden. Eine ganze Reihe von Autoren beweist ferner in ihren Arbeiten, dass aus den Centrosomen der Samenfäden und vielleicht auch der Flimmerzellen Impulse zur Bewegung ausgehen, dass also diese Gebilde nicht nur als dynamische, sondern auch als „kinetische Centren" dienen. Unsere eigenen Beobachtungen schliesslich, welche wir auf dem letzten (XII.) Kongress der russischen Naturforscher und Ärzte vorgetragen haben,[1]) veranlassen uns zu der Ansicht, dass die Bedeutung der Centrosomen sich lange noch nicht mit den obenerwähnten Funktionen erschöpft, da sie noch als Centren dienen, um welche sich die Bildung des jungen primären Protoplasma beim Wachsen der Zellelemente vollzieht.

Wie bekannt, haben in der Regel die Zentralkörperchen das Aussehen sehr kleiner Körnchen, welche in Zahl von zwei, selten mehr, im Zellkörper liegen und manchmal schon im Ruhezustand der Zellen, besonders aber während der Teilung eigenartige Veränderungen in dem Protoplasma hervorrufen. Diese Ver-

[1]) Tschassownikow, S. Zur Frage über die Centrosomen, Sphären und achromatischen Figuren der Zellen. Anat. Heft., Bd. 45, 1911.

änderungen drücken sich vor allem in der Bildung von Polstrahlen aus, welche aus beiden Centrosomen, sowie aus ihren Centren radial zur Peripherie ziehen, aber auch in der sich zwischen den auseinandergehenden Centrosomen bildenden eigenartigen Zentralspindel sich ausbilden. Die histologischen Arbeiten der letzten Jahre zeigten, dass in den Zellen ausser den Centrosomenkörnchen auch solche Zentralkörperchen zu finden sind, die in die Länge gedehnt sind und Stäbchen darstellen, welche aber auch gebogene sein können. K. W. Zimmermann[1]) beschrieb als erster solche verlängerte und dabei sehr kleine Centrosomen in den Zellen der Tränendrüse und im Epithel der ausscheidenden Harnwege des Menschen. Ein ähnliches hakenförmiges Aussehen der Zentralkörperchen wurde von F. Meves[2]) in den samenbildenden Zellen der Schmetterlinge beobachtet. Später fanden A. und K. E. Schreiner[3]) in den Spermatogonien und Spermatocyten von Myxine glutinosa ebensolche, vergleichsweise kurze Stäbchencentrosomen, welche sich durch Knospung vermehren. Besonders grosse stäbchenförmige Zentralkörperchen beobachtete K. von Korff[4]) in den männlichen Geschlechtszellen verschiedener Käfer (Hydrophilus, Feronea nigra, Harpalus pubescens), wobei es sich ergab, dass in den Spermatocyten erster Ordnung die Centrosomen in Form von Haken erscheinen, welche, ohne sich im Umfang zu vergrössern, während der Metaphasen in

---

[1]) Zimmermann, K. W. Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 52, 1898. Die Beobachtungen desselben Verfassers über grosse stäbchenförmige Centrosomen in den Pigmentzellen bei manchen Fischen (Studien über Pigmentzellen, Arch. f. mikr. Anat., Bd. 41, 1893) lassen wir beiseite, da wir in dieser Hinsicht Grund zu meinen haben, dass es sich hier um gewöhnliche Attraktionssphären handelt. Wir wollen hier noch erwähnen, dass in unseren Präparaten die Zentralkörperchen auch in den Tränendrüsenzellen der Katzen deutlich zum Vorschein kamen, dass sie aber hier nicht die Form der Stäbchen, sondern die der gewöhnlichen zwei Körnchen hatten.

[2]) Meves, Fr. Über den von La Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 56, 1900 und Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 61, 1902.

[3]) Schreiner, A. und K. E. Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Myxine glutinosa. Arch. de Biologie, T. 21, 1904.

[4]) von Korff, K. Weitere Beobachtungen über das Vorkommen V-förmiger Zentralkörper. Anat. Anzeig., Bd. 19, 1901.

zwei stäbchenartige Hälften zerfallen und in dieser Form in die Zellen der nächsten Generation übergehen. Die Beobachtungen von Korff waren kürzlich von A. Wassiljeff[1]) bestätigt worden, der bei Blatta germanica die Spermatogenese untersuchte. Dieser Autor erwähnt in seiner Arbeit, dass in der frühesten Generation der männlichen Geschlechtszellen, in den Spermatogonien, die Zentralkörperchen die Form von Körnchen haben, aber auch er lässt die Frage offen, ob die stäbchenförmigen Centrosomen der Spermatocyten aus den Zentralkörperchen-Körnchen oder ob sie de novo entstehen.

Indem wir alles Obenerwähnte resumieren, müssen wir zu dem Schluss kommen, dass alle genannten, wenig zahlreichen Arbeiten, ohne den Bau der stäbchenartigen Centrosomen zu berühren, die Frage über ihre Entstehung unbeantwortet lassen, wie auch die über die Veränderungen, welche dabei in dem Protoplasma während der Teilung der Zellelemente vorkommen. Diese Fragen nahmen wir als Ausgangspunkt unserer Forschungen, zu welchen als Objekt die samenbildenden Zellen des Wasserkäfers, Dytiscus marginalis, zum Teil auch Hydrophilus piceus dienten. Die männlichen Geschlechtsdrüsen dieser Insekten wurden in unserer Mischung aus Sublimat, Osmium und Essigsäure fixiert,[2]) nach der Auswaschung in fliessendem Wasser und dem Härten in Alkohol von allmählich steigender Konzentration in Paraffin eingebettet und in Serien ziemlich dünner Schnitte (von 3,5 bis 5 μ) zerlegt, welche, wie gewöhnlich, mit Eisenhämatoxylin nach M. Heidenhain gefärbt wurden.

Indem wir zur Beschreibung unserer eigenen Beobachtungen übergehen, müssen wir vorausschicken, dass sich, soweit man nach den verschiedenen Grössen der karyokinetischen Figuren urteilen darf, bei Dytiscus die Zellen der älteren Generation der Geschlechtsdrüsen - Spermatogonien mehrmals mitotisch teilen. Dabei enthalten sie in allen Perioden ihrer Existenz Centrosomen in Gestalt von zwei Körnchen, die bald grösser (im Stadium der Äquatorialplatte), bald kleiner (im Anfang und am Ende der Karyokinese) sind. Diese Körnchen liegen sehr eigenartig im

[1]) Wassiljeff, A. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 70, 1907.

[2]) Tschassownikow, S. Über den Bau und die funktionellen Veränderungen der Pankreaszellen. Diss. Warschau 1900.

Zellkörper und sind von einer besonderen Masse (Idiosoma) umgeben (Fig. 1). Während wir in dieser Hinsicht mit Wassiljeff übereinstimmen, der ebenfalls in den Spermatogonien bei Blatta doppelte Zentralkörperchen beschrieb, haben wir im Gegensatz zu ihm niemals beobachtet, dass die Centrosomen verschmelzen und dass aus einem jeden Centrosomenpaar ein grosses kugeliges entstände. Auf Grund unserer Beobachtungen sind wir sogar geneigt, zu meinen, dass solch eine Behauptung seinerseits kaum richtig ist und dass sie wahrscheinlich durch die kleinere Dimension der Spermatogonien bei Blatta und durch die minder gute Behandlung der Objekte erklärt wird.

Wenn die Spermatogonien sich zu teilen aufhören, wenn sie in den Ruhezustand eintreten und wachsend in Spermatocyten erster Ordnung sich verwandeln, so bleibt wenigstens die erste Zeit das Aussehen der in ihnen vorhandenen Zentralkörperchen unverändert. Sie behalten wie früher das Aussehen von Doppelkörnchen, sie werden aber bedeutend grösser im Vergleich zu dem, was man in den soeben geteilten Spermatogonien sieht (Fig. 2 und 3). Bald jedoch zerfallen die Centrosomen in zwei Teile, so dass in dem Spermatocyt in der Nähe des Kernes eine Gruppe von vier Körnchen entsteht (Fig. 4), welche sich allmählich zur Peripherie der Zelle verschieben (Fig. 5), und indem sie sich allem Anscheine nach wieder vermehren, verwandeln sie sich in kleine hakenförmige Zentralkörperchen (Fig. 7).

Wie diese Veränderung von Centrosomen zustande kommt, ist am besten aus den verhältnismässig seltenen Fällen zu ersehen, wo die noch nicht ganz fertigen Zentralkörperchen an der Zellgrenze liegen und eine Reihe von Körnchen darstellen. So sind z. B. in der im linken unteren Winkel der Fig. 6 liegenden Zelle deutlich zwei Gruppen von Centrosomen zu unterscheiden, von welchen jede zwei Körnchen enthält, während die Körnchen in den übrigen Zellelementen nicht zählbar sind, da sie dicht aneinander liegen; wenn man aber die Länge der durch die Körnchen gebildeten Reihen in Betracht zieht, so kommt man unwillkürlich zum Schluss, dass vor dem Entstehen der stäbchenförmigen Centrosomen eine Vermehrung der Körnchen stattfindet. In den Hauptzügen ist der soeben beschriebene Prozess dem von Meves (1903, loc. cit.) festgestellten ähnlich, welchen wir später an unseren Präparaten bei der ersten Reifungsteilung der oligo-

pyrenen Spermien bei Paludina vivipara beobachteten. Sowohl dort als hier vollzieht sich der Zerfall der anfänglich grossen Centrosomen in kleine Körnchen, aber während bei Paludina jedes Körnchen einzeln nach der Zellperipherie zieht, bilden dieselben bei Dytiscus den zwei ursprünglichen Centrosomen ähnlich zwei Gruppen und in beiden liegen sie dicht aneinander in der Richtung von geraden oder winkelartig gebogenen Linien.

Solange die Centrosomen in der Mitte der Zelle, nicht weit vom Zellkern sich befinden, kann man noch, zwar nicht besonders deutlich, die sie umgebende eigenartige Ansammlung des Idiosoma unterscheiden; sobald sie aber nach der Peripherie der Zellen ziehen und die Hakenform annehmen, dann bleibt von dieser Anhäufung keine Spur (Fig. 5 und 6). Wie die Desintegration des Idiosoma bei Dytiscus zustande kommt, können wir ganz bestimmt nicht sagen; wenn wir aber nach dem urteilen sollen, was wir bei der Spermatogenese an anderen Objekten beobachtet haben, so zerfällt wahrscheinlich das Idiosoma allmählich auch hier in immer kleinere Fragmente, die sich im Zellkörper zerstreuen.

Nachdem sie sich ganz entwickelt und die Form von Haken angenommen haben, pflegen die Centrosomen am äusserlichen Kontur der Zellen in streng bestimmter Ordnung und nebeneinander zu liegen, wobei sie ihre freien Enden nach aussen und ihre Krümmungen nach der Mitte der Zellelemente richten (Fig. 7 und 8). Nachher fangen die Centrosomen an, auseinander zu rücken, und indem sie mit der Zellperipherie in Verbindung bleiben, verschieben sie sich, bis sie die entgegengesetzten Pole des Zellkernes erreichen (Fig. 9 und 10). Während dieser Verschiebung verlängern sich die Centrosomen deutlich und werden etwas dicker, wobei das Wachstum, wie man vermuten muss, in Verbindung mit der Vermehrung einzelner Körner, wie auch mit der Vergrösserung der letzteren steht.[1])

[1]) Die von Wassiljeff beschriebenen und ein anderes Objekt betreffenden Fälle, dass nämlich die hakenförmigen Centrosomen zueinander gewendet sind oder mit einem oder beiden freien Enden nach der Mitte des Zellkörpers sich richten, entsprechen wahrscheinlich der Wirklichkeit nicht und erklären sich allem Anscheine nach durch die Übertragung in der Figur dessen, was in verschiedenen Flächen liegt. Zweifellos wird dadurch auch der Umstand erklärt, dass an unseren Fig. 6 und 7 die Zentralkörperchen-Häkchen nicht bis zum gezeichneten Umriss der Zellen reichen.

Sobald im Inneren des Kernes sich Chromosomen in Gestalt von sphärischen Klümpchen bilden, welche sehr rasch in Tochterchromatinsegmente zerfallen, verschwindet die Kernmembran, die Zentralkörperchen aber vergrössern sich noch mehr und rufen einerseits Veränderungen in der äusseren Konfiguration der Zellen hervor, andererseits führen sie zur Anlage der Achromatinspindel (Fig. 11). In dieser Hinsicht ist unsere Fig. 12 bemerkenswert, die sehr an die bekannte Zeichnung von F. Hermann erinnert, welche das Entstehen der Zentralspindel illustriert. Tatsächlich kann man bei Dytiscus deutlich sehen, dass beide stäbchenförmigen Centrosomen durch einen spindelartigen Komplex ziemlich dicker Fasern miteinander verbunden sind, und dass die Centrosomen zur selben Zeit, als Insertionspunkte für zwei Fädenbündel desselben Kalibers dienen, welche zu den Chromosomen gerichtet sind, nicht selten eine Kreuzung in der Äquatorialebene der Zelle zeigen und den Keim der zweiten Kernspindel darstellen. Dabei unterliegt es keinem Zweifel, dass diese ganze faserige Masse nur aus dem Protoplasma entsteht, da sich die ersten Entwicklungsstadien der beiden Spindeln grossenteils bei Erhaltung der Kernmembran beobachten lassen, wobei im Inneren der Membran noch Chromatinklümpchen vorhanden sind ohne jegliche Zeichen von einem Liningerüst.

Alsdann treten die Tochterchromosomen in Verbindung mit den Fasern der Kernspindel und lagern sich in die Äquatorialebene der Zelle; in diesem Momente erreicht die karyokinetische Figur ihre höchste Entwicklung. In diesem Stadium, welches der Äquatorialplatte entspricht, sind die stäbchenförmigen Centrosomen von der Peripherie der Zellen verschoben; sie strecken sich gerade und krümmen sich zugleich, aber schon in entgegengesetzter Richtung. Der mannigfache Bestand der Centrosomen tritt jetzt deutlicher hervor, da die Körnchen, aus denen sie zusammengesetzt sind, grösser geworden sind. Ausserdem erscheinen an beiden Enden jedes Centrosomes zwei Bläschen, an deren Verbindungsstelle mit dem Zentralkörperchen je ein kleines schalenförmiges Gebilde bemerkbar wird; dieses Gebilde färbt sich mit Eisenhämatoxylin ganz so, wie die Körnchen der Stäbchen, wobei infolge der genannten Differenzierung die Zentralkörperchen ein sehr eigenartiges Aussehen erhalten (Fig. 14). Bezüglich der obenerwähnten Bläschen gelang es uns die Tatsache festzustellen,

dass dieselben beständige Gebilde sind und dass sie von dem Moment ihrer Entstehung ab samt den Centrosomen aus einer Zellengeneration in die andere übergehen, um zum Schluss in den Spermatiden am Bau des Apex oder Perforatoriums des Kopfes der Samenfäden Anteil zu nehmen.[1])

Da die stäbchenförmigen Centrosomen als dynamische Centren erscheinen, welche einen komplizierten Zyklus von Prozessen im Zellkörper verursachen, so rufen diese Centrosomen infolge ihrer eigenartigen Form eine ganz besondere und bis jetzt von Niemandem

---

[1]) Die Nachforschungen in der Literatur über die Spermatogenese zeigen, dass unsere schalenförmigen Gebilde mit den zu ihnen gehörenden Bläschen den sogenannten chromatoiden Körperchen entsprechen, welche allem Anscheine nach zuerst von Benda beobachtet wurden (1891) und welche nachher von einer ganzen Reihe von Forschern bei verschiedenen Tieren beschrieben wurden (Moor, C. Nissing, A. und K. E. Schreiner, v. Lenhossek, v. Ebner, Schönfeld, Meves, Tönninges, C. Thesing und anderen). Die Bedeutung und Entstehung dieser Gebilde waren bis jetzt rätselhaft. Manche Autoren (v. Lenhossek, Meves und Schreiner) lassen sie aus den Kernen entstehen; solch eine Vermutung findet aber in unseren Forschungen keine Bestätigung. Man kann mit voller Bestimmtheit sagen, dass bis zum Auftreten der schalenförmigen Körperchen aus dem Kerne durch seine Membran weder Nukleolen noch Chromatinklümpchen auswandern und dass weder von den einen noch von den anderen eine Spur im Zellkörper sich beobachten lässt. Andererseits gibt die innige Verbindung der chromatoiden Körperchen mit den Centrosomen und ihr mit dem der Centrosomen gleichartiges Verhalten zu Färbemitteln das Recht zu vermuten, dass vielleicht unsere Gebilde einen centrosomalen Charakter tragen. Aber auch diese Meinung erwies sich als unbegründet. Unsere Beobachtungen bestätigen, dass die schalenförmigen Körperchen kurz vor der bedeutenden Veränderung der äusserlichen Kontur der Zellen entstehen, dabei verschieben sich die Enden der stäbchenartigen Zentralkörperchen von der Zellperipherie, indem sie sich von der Peripherie von jeder Seite zuerst durch ein ganz kleines und helles Bläschen trennen. Allmählich vergrössert sich jedes von diesen vier in der Zelle entstehenden Bläschen im Umfange und an der Wand derselben, öfter an der dem Centrosomalende entgegengesetzten Seite erscheint eine kleine sich dunkelfärbende körnige Masse, welche auf der Oberfläche des Bläschens zerfliesst, die Schalenform annimmt und erst zuletzt mit den Körnchen des stäbchenförmigen Centrosoma in Verbindung tritt. Wenn wir noch beifügen, dass sich die schalenförmigen Gebilde nicht selten schon bei der zweiten Reifungsteilung von den Zentralkörperchen trennen, so kann man die Frage über ihre Entstehung in dem Sinne als entschieden ansehen, dass die chromatoiden Körperchen Produkte des Zellprotoplasma sind, welche wahrscheinlich infolge der Ausscheidung resp. Niederschlages einer besonderen Substanz aus dem Inhalte der Bläschen entstehen.

beschriebene Veränderung das Protoplasma hervor. Hier fällt vor allem ins Auge, dass die seitlichen Konturen der sich teilenden Zellen mehr oder weniger glatt sind, indem an den Enden, welche den Polen entsprechen, eine Menge von Blasen oder, besser gesagt, grosser ausgestreckter Waben vorhanden sind, die sich nach den Centrosomen richten und an jedem Pole eine Art von Rosette bilden. Bei genauerem Durchmustern erweist es sich, dass die Wände dieser Waben in einer bestimmten Ordnung liegen und sich von den Zentralkörperchen radial zur Peripherie ausdehnen und auf diese Weise ein Äquivalent der gewöhnlichen Polstrahlen darstellen. Wenn man ferner auf den aufeinanderfolgenden Schnitten solche Bilder durchmustert, auf welchen die stäbchenförmigen Centrosomen quer geschnitten sind und als einfache Körner sich darstellen, so kann man zu dem Schluss kommen, dass jedes Körnchen, welches das komplizierte Zentralkörperchen bildet, als Insertionsmittelpunkt für einige innig mit ihm verbundene Waben dient (Fig. 13, vergleiche auch Fig. 11).

Wenn wir jetzt zu dem Zellkörper auf der den Centrosomen entgegengesetzten Seite übergehen, so sehen wir (Fig. 13, 14 und 15), dass hier ebenfalls von den Körnchen der letzteren Strahlen in Form dicker Fasern austreten, die sich mit Eisenhämatoxylin schwach färben und einander ziemlich nahe in leichten Krümmungen ohne Unterbrechung von einem Pol zum anderen ziehen. Es ist vollkommen unmöglich, sich in diesem Geflechte, welches an einen dichten Filz erinnert, an den Längsschnitten zu orientieren und zu entscheiden, ob die Fasern isoliert ziehen, oder ob sie miteinander anastomosieren. Das sorgfältige Durchmustern der Querschnitte zeigt uns jedoch, dass wir es mit wahren Fasern zu tun haben, welche sich miteinander nicht verbinden und sich nicht in feinste Fibrillen zerlegen. Die Stränge dieser Fasern geben in Schnitten ein Bild, das den Cohnheimschen Feldern der quergestreiften Muskelfasern sehr ähnlich ist, da wir auch in unserem Falle eine Reihenfolge leicht gefärbter Klümpchen und zwischen diesen helle Septa des Hyaloplasma sehen (Fig. 16). Die nach unserer Art behandelten Präparate bewahren nicht die Mitochondrien; wenn man sie jedoch mit Präparaten, die nach Bendas Methode behandelt sind, vergleicht, so kommt man zu folgendem Schluss: in den sich teilenden Spermatocyten verlaufen die Mitochondrien in Gestalt langer und

verhältnismässig dicker geschlängelten Stränge, und zwar in dem Hyaloplasma, zwischen den peripherischen Fasern und dabei parallel der Längsachse der Zellen. Wenn man also die Entstehung der peripherischen Fasern, sowie auch deren Beziehung zu den Zentralkörperchen und schliesslich ihr Schicksal in der Schlussphase der Karyokinese (Fig. 18, 19, 20) in Betracht zieht, so kann man daran gar nicht zweifeln, dass diese Fasern die Zentralspindel bilden, welche merkwürdigerweise nicht gegen das Innere der Zugfasern, sondern ausserhalb der letzteren liegt. Die Fasern der Zentralspindel bei Dytiscus liegen in dem ganzen peripherischen Teile des Zellkörpers und lassen in der Mitte desselben einen freien Raum für die zweite eigentliche Kernspindel.[1])

Was die letztere anbetrifft, so ist ihre Struktur bei Dytiscus, sowie auch in anderen von uns beobachteten Fällen (in den Spermatocyten von Helix pomatia und den Blastomeren des Axolotl) gar nicht kompliziert. Sie besteht aus intensiv sich färbenden, ebenso, wie an der Peripherie, dicken Fasern, deren Zahl vollkommen der Zahl der Chromatinklümpchen entspricht. Trotz der sorgfältigsten Beobachtung fanden wir keine Spur davon, dass diese Fasern aus Bündeln von feineren Fibrillen bestehen oder Plättchen darstellen (vergl. Schreiner). Obgleich ferner die Kernspindel in Gestalt von zwei Fadensystemen entsteht, so ist es, wenn wir die Bilder der jetzt in Betracht kommenden und der darauf folgenden Phasen der Karyokinese vergleichen, leicht zu schliessen, dass sich die Spindelfasern mit den Chromo-

[1]) Ebensolche eigenartige Verteilung der Fasern in der chromatischen Spindel war früher nur von K. Braus in den einschichtigen Blastulen der Tritonen (Über Zellteilung und Wachsen des Tritoneies. Jenaisch. Zeitschr. f. Naturw., Bd. 29, 1895) und von E. Korschelt bei Ophryotrocha (Über Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei Ophryotrocha puerilis (Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 60, 1895) beschrieben worden. Übrigens zeigte uns die Prüfung der Beobachtungen von Braus, dass die von ihm beschriebenen Verhältnisse der Wirklichkeit nicht entsprechen und dass er wahrscheinlich für die Zentralspindelfasern die Polstrahlen hielt, welche in der Nähe der Achromatinspindel sich befanden. Möglich ist es, dass man auf dieselbe Weise die von Korschelt dargestellten Bilder erklären kann. Um so mehr, da der genannte Forscher nach seiner eigenen Aussage keine besondere Aufmerksamkeit der achromatischen Struktur widmete, weil er nicht die Möglichkeit hatte, bei seinem Objekte besonders brauchbare konservierende Mittel zu verwenden.

somen verbinden und zur selben Zeit von einem Pol zum anderen ziehen. Übrigens erreichen diese Fasern mit ihren Enden die Zentralkörperchen nicht, sondern sie verschmelzen im protoplasmatischen Zellgerüst, welches einen undeutlichen fibrillenartigen oder schaumigen Bau hat.

Wenn wir jetzt alle oben beschriebenen Veränderungen des Protoplasma in Verbindung und Abhängigkeit von der eigenartigen Form der Zentralkörperchen bringen, so kommen wir zum Schluss, dass unsere stäbchenförmigen Centrosomen nicht mit den Microcentren zu identifizieren sind. Nach der Beschreibung von M. Heidenhain,[1]) welcher diesen Begriff in die Wissenschaft einführte, wirkt das Microcentrum, wie ein ganzes, unabhängig davon, ob es ein, zwei oder mehr Zentralkörnchen einschliesst, während in unserem Falle jedes Körnchen, das zum Bestand der stark gedehnten Centrosomen gehört, eine gewisse Selbständigkeit besitzt und als Insertionspunkt einer gesonderten Strahlung dient.

Indem wir von dem Stadium der Äquatorialplatte zu den Anaphasen der Teilung übergehen, die auf unseren Fig. 17 und 18 dargestellt sind, wollen wir bemerken, dass sich während der letzteren das Wachstum und die Verlängerung des Zellkörpers vollzieht, wie auch ein Zurücktreten der Tochterchromosomen zu den Spindelenden zustande kommt, nämlich zu den Stellen der Spindel, wo sich ihre Fasern zwischen den Waben des Protoplasmagerüstes verlieren. Dabei bleiben beide Chromosomengruppen untereinander mittels Fäden, welche etwas anderes als Fasern der früheren Kernspindel darstellen, verbunden. Andere mehr oder weniger bemerkbare Veränderungen seitens des Protoplasma lassen sich nicht beobachten.

Die Zentralkörperchen, die auf obenerwähnte Weise gebogen sind, brechen zu dieser Zeit in der Mitte, indem ein jedes in zwei Stäbchen zerfällt, welche mit ihren bläschenförmigen Anhängen auseinander zu weichen beginnen und dabei entsprechende Veränderungen im Protoplasma hervorrufen; die Waben des letzteren häufen sich an jedem Zellende in zwei Systemen an, während die peripherischen Fasern allmählich einander sich nähern (Fig. 19).

---

[1]) Heidenhain, M. Plasma und Zelle. 1. Lief. 1907.

Sobald die erste Reifungsteilung, welche die Spermatocyten der zweiten Ordnung erzeugt, endet, entwickeln sich vor unserem Auge schöne Bilder, die vor allem darauf hinweisen, dass sich in weiterer Folge die Zellen, wenn man so sagen darf, in der Teilung, beeilen und in der Tat ist es auf unserer Fig. 20 klar zu sehen: die Spermatocyten zweiter Ordnung sind im Begriff, sich eben zu gestalten, wofür die noch vorhandene Verbindung zwischen den beiden Tochterzellen mittels der Spindelreste, welche die Rolle der Zentralspindel spielen und Zwischenkörper enthalten, spricht; die Chromosomen dagegen strömen, ohne ins Stadium der Ruhe des Kernes überzugehen und ohne sich zu spalten, nach der Äquatorialebene der Zelle.

An beiden Seiten der Chromosomen lassen sich Centrosomen beobachten, die jetzt die Form von Stäbchen haben und die gerade die Hälfte der Centrosomen der vorhergehenden Generation bilden, wobei ein jedes Stäbchen mit einem bläschenförmigen Anhang verbunden ist, welcher nur zufällig auf unserer Zeichnung nicht zu sehen ist. Von diesen Zentralkörperchen gehen nach aussen Radialstrahlen aus, zwischen denen sich Fasern hinziehen, welche die Spindel formieren; schliesslich begeben sich von ihnen zur Ebene der Teilung der Mutterzelle auf dem Schnitte zwei breite Bündel langer und dicker Fäden: diese Stränge entstehen augenscheinlich nicht aus den Verbindungsfasern, welche zu dieser Zeit spurlos verschwinden, sondern aus den peripherischen Fäden, die früher die karyokinetische Figur umgaben. Eine kleine Versetzung der Chromosomen und der Zentralkörperchen, eine etwas grössere Entwicklung der Strahlensysteme an den Zellenenden und eine Versetzung des Protoplasma zwecks Bildung der peripherischen Faserschichte genügt, um ein Bild der Äquatorialplatte zu liefern.

Die nächstfolgenden Stadien dieser zweiten Reifungsteilung werden wir nicht beschreiben, da sie in Miniatur dieselben Struktureigenheiten zeigen, welche man bei der Vermehrung der Spermatocyten erster Ordnung beobachtet. Die hier von uns gegebenen Fig. 21 und 22 beweisen, dass in den Spermatocyten zweiter Ordnung weder das Wachsen, noch die Teilung der Centrosomen vorgeht und wir deswegen in den aus ihnen entstehenden Spermatiden (Fig. 23) untereinander verschmolzenen und von der Kernmembran umhüllten Chromosomen begegnen, wie auch ebenso

grossen stäbchenförmigen Zentralkörperchen. Aus den letzteren entströmt noch die erste Zeit eine Radialstrahlung, aber bald schwindet sie; das Centrosoma lehnt sich an den blasenartigen Kern und indem es sich von demselben nach aussen richtet, setzt es sich in das Caudalende der Spermatozoen fort (Fig. 24). Es folgt daraus deutlich, dass das in die Länge gedehnte Zentralkörperchen ohne jegliche weitere Veränderungen zu einem Mittelstücke des Samenfadens wird.

Ausserdem erscheint im Körper der soeben abgetrennten Spermatiden, im Winkel zwischen dem Kerne und dem von ihm ausgehenden Centrosoma ein neues sphärisches Gebilde von konzentrisch geschichtetem Bau, der sogenannte Nebenkern, bezüglich dessen unsere Präparate darauf hinweisen, dass dieses Gebilde bald verschwindet, zum Idiosoma keine Beziehung hat und im gegebenen Falle nur einen sich desorganisierenden Rest der Zentralspindel darstellt. Bei dem Studium der Entwicklung der Samenfänden gelang es uns, Schnitt für Schnitt zu verfolgen, wie das Bläschen, welches früher in Verbindung mit dem Centrosoma stand, sich mit seinem chromatoiden Körperchen von dem Centrosoma verschiebt, zur Spitze des Spermatozoenkopfes übergeht und zur Bildung des Perforatorium desselben führt (Fig. 25, 26).

Wenn wir zum Schlusse die Beobachtungen, welche die Grundlage unserer Arbeit bilden, summieren, so kann man deren Resultate bezüglich der Centrosomen in folgenden drei Sätzen formulieren. 1. Nach der morphologischen Natur stellen die aus einer Reihe von Körnchen bestehenden stäbchenartigen Zentralkörperchen eigentlich vielfache Centrosomen dar, welche von gewöhnlicher, d. h. sphärischer Form sind. 2. Was den Sinn und die Bedeutung des Prozesses, welcher die Bildung der stäbchenförmigen Centrosomen hervorruft, anbetrifft, so muss man ihn nicht anders als eine frühe Entwicklung des Mittelstückes der Spermatozoen betrachten. Wenn man aber in Betracht zieht, dass solche Entwicklung schliesslich der Vermehrung von Centrosomen gleicht, so finden wir darin nichts Ausserordentliches. Erinnern wir daran, dass die Bildung der vielfachen Centrosomen der Spermatiden bei Paludina vivipara, wie Meves zeigte und wie wir auf unseren Präparaten gesehen haben, sich hauptsächlich in den Spermatocyten nicht der zweiten, sondern der ersten

Ordnung vollzieht. Auf Grund unserer Beobachtungen wollen wir noch darauf aufmerksam machen, dass bei gewöhnlichen Teichschnecken (Limnaeus stagnalis) die zwei Zentralkörperchen, welche in die Spermatiden übergehen, schon im ersten Momente der Existenz der Spermatocyten zweiter Ordnung entstehen, demzufolge jeder von ihnen vier Centrosomen einschliesst, welche bei der zweiten Reifungsteilung sich nicht mehr vermehren. 3. Endlich, und das ist vielleicht das Hauptresultat dieser Arbeit, stellt das ganze Mittelstück des Spermatozoon bei Dytiscus zweifellos ein Centrosoma dar, und als solches kommt es auch bei einfachen Samenzellen, z. B. bei Ascaris megalocephala, und wahrscheinlich auch in anderen Fällen vor; hier treten aber diese Verhältnisse nicht so klar und deutlich in die Erscheinung.

Sämtliche Abbildungen sind von uns mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparates (die Projektion auf den Objekttisch) mit Zeiss' Ölapochromat 1,5 mm und Okular compens. 8 entworfen worden. Wir benutzten die jetzt allgemein gebrauchten stärkeren Okulare 12 und 18 aus dem Grunde nicht, weil solche Vergrösserungen bei Feststellung neuer Strukturdetails der Zellen nichts helfen und sogar bei sehr intensiver künstlicher Beleuchtung die gewöhnlich sehr deutlichen mikroskopischen Bilder etwas verwischen.

Die Ausführung der Zeichnungen zu dieser Arbeit war mit grossen Schwierigkeiten verbunden. Auf den dünnen Schnitten war es sehr schwer, solche Zellen zu finden, in welchen alle Zentralkörperchen mit den zu ihnen gehörenden bläschenförmigen Gebilden sich vorfinden. Wir vermieden absichtlich in dieser Beziehung eine Schematisation; eine solche ist von uns nur auf Fig. 18 zugelassen worden, wo als Ergänzung zu drei Centrosomen ein viertes dargestellt ist, welches in derselben Zelle, aber in dem nächstfolgenden Schnitte sich befand, sowie auch auf Fig. 21, auf welcher ein Bläschen neben dem oberen Zentralkörperchen zugefügt ist. Ausserdem gelang es uns vielleicht nicht ganz genau die Verhältnisse der peripherischen Waben des Protoplasma darzustellen, besonders auf Fig. 15, 18 und 22, da die stäbchenförmigen Centrosomen auf Präparaten gewöhnlich nicht in einer Ebene liegen.

Ausführliche Erläuterungen fordern unsere Abbildungen nicht. Als Erklärung zu denselben genügt darauf zu verweisen, dass Fig. 1 die sich teilenden Spermatogonien, Fig. 2—19 Spermatocyten erster Ordnung, Fig. 20—22 Spermatocyten zweiter Ordnung, Fig. 23 und 24 Spermatiden und endlich Fig. 25 und 26 nicht ganz entwickelte Samenfäden darstellen.

Aus dem Biologischen Institut zu Berlin.

Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch artfremden radiumbestrahlten Samen.

Von

Günther Hertwig.

Hierzu Tafel VI und VII und 6 Textfiguren.

Inhalt.

Einleitung.

Es ist eine bei Bastardierungsexperimenten häufig zu beobachtende Erscheinung, dass die mit artfremdem Samen befruchteten Eier nach normaler Zweiteilung und Furchung auf dem Keimblasenstadium plötzlich in ihrer Weiterentwicklung innehalten und rasch zugrunde gehen. Das ist z. B. auch der Fall bei den von Pflüger und Born vorgenommenen Kreuzungen zwischen Bufo vulgaris ♀ und Rana fusca ♂, sowie zwischen Rana esculenta ♀ und Rana fusca ♂.

Diese beiden relativ leicht ausführbaren Kreuzungsexperimente schienen mir nun eine treffliche Gelegenheit zu bieten, um durch Kombination von Bastardierung und Radiumbestrahlung der Keimzellen tiefer in die Ursachen der Entwicklungsstörungen und -anomalien einzudringen, die bei artfremder Kreuzung auftreten.

Die Experimente konnten in zweierlei Weise vorgenommen werden, indem einmal die Eier allein vor ihrer Befruchtung mit Radium bestrahlt, andererseits nur die zum Bastardierungsexperiment bestimmten Samenfäden den Radiumstrahlen ausgesetzt wurden. Von vornherein schien mir das an zweiter Stelle genannte Experiment besonders wichtig, hoffte ich doch hierdurch die von O. Hertwig und mir aufgestellte Hypothese, dass langdauernde Radiumbestrahlung der Samenfäden eine parthenogenetische Entwicklung der mit ihnen besamten Eier hervorruft, an einem weiteren, klaren Beispiel zu bestätigen. Denn wenn unsere Annahme richtig war, dass der intensiv mit Radium bestrahlte Samenfaden infolge der Vermehrungsunfähigkeit seines Chromatins nur als entwicklungserregender Faktor wirksam ist, so war zu erwarten, dass bei den Eiern, die mit bestrahlten artfremden Spermien besamt waren, die Entwicklung nicht auf dem Blastulastadium zum Stillstand kommen, vielmehr spätere Embryonalstadien erreichen würde, genau so wie bei den mit intensiv bestrahltem, artgleichem Sperma versetzten Froscheiern in unseren früheren Versuchen.

Die auf den folgenden Seiten beschriebenen Experimente haben nun tatsächlich das im voraus von mir erwartete Resultat ergeben und somit die Richtigkeit unserer hypothetischen Anschauungen bestätigt, die von O. Hertwig und mir in unseren früheren Arbeiten über die Radiumeinwirkung auf tierische Keimzellen (1911, 1912) entwickelt wurden. Ein auf diese neue

Methode von mir erzieltes grösseres Material parthenogenetischer Kröten- und Froschlarven gibt uns die willkommene Gelegenheit, in einem besonderen Teil die Frage zu erörtern, ob eine normale Embryonalentwicklung bei parthenogenetischen Larven mit haploidem Kernapparat möglich ist.

A. Experimenteller Teil.

1. Entwicklungserregung von Kröteneiern (Bufo vulgaris) durch radiumbestrahlten Froschsamen (Rana fusca).

Am 22. März 1912 wurden die Eier eines frisch eingefangenen Weibchens von Bufo vulgaris zu folgenden drei Versuchen benutzt.

1. Eine grössere Anzahl Kröteneier wurde mit einer Samenflüssigkeit übergossen, die durch Zerzupfen eines Hodenstückchens von Rana fusca in Kochsalzlösung und nachfolgender starker Verdünnung der konzentrierten Samenflüssigkeit mit 0,15 % Kochsalzlösung gewonnen worden war. (A-Versuch.)

2. Ein weiterer Teil der Eischnüre wurde mit einer ebenso stark verdünnten Samenflüssigkeit von Rana fusca versetzt, die vor ihrer Verdünnung mit Kochsalzlösung $4^1/_4$ Stunden zwischen zwei Mesothoriumpräparaten von der Stärke 55 mg und 10 mg reinem Radiumbromid in 2 mm Abstand bestrahlt worden war. (B-Versuch.)

3. Endlich wurden noch Eier desselben Krötenweibchens mit Krötensamen zur Kontrolle befruchtet. (C-Versuch.)

Es versteht sich von selbst, dass während der beiden ersten Versuche jede Verunreinigung durch artgleichen Samen aufs sorgfältigste ausgeschlossen wurde. Von einer grossen Anzahl Kröteneier, die zur Kontrolle ohne Samenzusatz in reines Wasser geworfen wurden, entwickelte sich kein einziges.

Etwa $3^1/_2$ Stunden nach dem Samenzusatz begann in allen drei Versuchen die erste Teilung aufzutreten, die im C-Versuch bei allen Eiern zu einer regelmässigen Zweiteilung führte, während im A- und B-Versuch neben einer grösseren Anzahl normal zweigeteilter Eier sich auch Eier fanden, die durch unregelmässige, verschieden tief einschneidende Furchen in mehrere Teilstücke zerlegt wurden. Die Zahl dieser nach Born, der diesen Vorgang zuerst näher beschrieben und benannt hat, „barock" gefurchten Eier war im A-Versuch deutlich grösser als im B-Versuch.

Es wurden damit die Beobachtungen von Pflüger und Born bestätigt, die bei der Bastardierung von Kröte × Frosch immer eine

wechselnde Anzahl barock gefurchter Eier erhielten. Namentlich Born hat gezeigt, dass der Prozentsatz der barock gefurchten Eier von der Konzentration der Samenflüssigkeit abhängt: so erhielt er bei einem Versuch, indem er stark konzentrierte unverdünnte Samenmilch anwandte, fast ausschliesslich unregelmässig gefurchte Eier. Born wies nach, dass diese unregelmässige Furchung durch das gleichzeitige Eindringen mehrerer Samenfäden in das Ei verursacht wird.

Um die Polyspermie möglichst zu vermeiden, hatte ich daher in meinen Versuchen den Samen mit Kochsalzlösung stark verdünnt. Ein weiteres Moment, das im B-Versuch, wie soeben erwähnt, den Prozentsatz der polyspermen Eier im Vergleich zum A-Versuch noch weiter herabgesetzt hat, können wir wohl in der durch die intensive Radiumbestrahlung verminderten Beweglichkeit und herabgesetzten Energie der Spermatozoen erblicken.

Am Tage nach der Befruchtung war die Entwicklung der Eier in allen drei Versuchen gleichmässig bis zur Morula fortgeschritten, erst am folgenden Tage machten sich die ersten Unterschiede geltend. Im Kontrollversuch C, bei den mit artgleichem Samen befruchteten Kröteneiern, hatte die Gastrulation begonnen, der Urmund war bei allen Eiern ringförmig und bereits ziemlich eng. Im A-Versuch dagegen befanden sich noch alle Eier auf dem Blastulastadium, kein einziges Ei hatte gastruliert. Genau so, wie es schon Pflüger und Born für diese Bastardierung beschrieben haben, starben sämtliche Eier noch im Laufe des Tages ab, indem weissliche Flecken an ihrer Oberfläche auftraten und die Gallerte sich trübte.

Ganz anders war dagegen das Bild, das die Eier des B-Versuches am 24. März darboten. Nur ganz wenige von ihnen waren in ihrer Entwicklung auf dem Blastulastadium stehen geblieben, ihre Zahl entsprach ungefähr den barock gefurchten, polysperm befruchteten Eiern. Alle anderen hatten gastruliert und waren in diesem Prozess fast ebensoweit vorgeschritten, als die Kontrolleier des C-Versuches. Nur wenige Eier zeigten schon jetzt deutlich pathologische Formen der Urmundbildung, wie die Bildung eines Riesendotterpfropfes in der von O. Hertwig in

seiner Schrift über die Radiumkrankheit bei Froscheiern genauer geschilderten Weise.

Am 25. März lebte von den mit Froschsperma bastardierten Kröteneiern kein einziges mehr. Die Eier des B-Versuches dagegen, die mit radiumbestrahltem Froschsperma besamt worden waren, hatten zum grösseren Teil genau so wie die Kontrolleier in fast normaler Weise die Nervenrinne gebildet. Bei einer Minderzahl, etwa 20 %, dagegen war die Gastrulation abnorm verlaufen und hatte zur Bildung von Spinae bifidae, sowie vereinzelten Hemiembryones laterales geführt. Ein Teil dieser Missbildungen wurden in Chromsublimat konserviert, drei von ihnen sind mit einer gleichaltrigen Kontrollarve in den Fig. 1—4 auf Taf. VI abgebildet. Einen Durchschnitt durch die Mitte der in Fig. 1 dargestellten Spina bifida zeigt die Fig. 24 auf Taf. VII. Man erkennt deutlich, dass der Urmundrand auf der rechten Seite sich weiter differenziert hat als auf der linken Seite. Denn während auf der linken Hälfte der Urmundrand ganz undifferenziert ist, findet sich auf der anderen Seite eine halbe Medullarplatte, eine Chorda sowie ein leidlich gut ausgebildeter Mesodermstreifen differenziert. Der in Fig. 3 abgebildete verkrüppelte Embryo wies auf Schnitten eine starke Missbildung des Medullarrohres auf, das stellenweise noch nicht geschlossen war. Auch hier zeigte sich die eine Hälfte des Nervenrohres besser ausgebildet als die andere. Es erinnern diese Missbildungen sehr an die von O. Hertwig genau beschriebenen Spinae bifidae und Hemiembryones laterales beim Frosch: ich will daher auf ihre morphologische Bedeutung hier nicht weiter eingehen. Es versteht sich von selbst, dass diese stark missgebildeten Embryonen sich nicht weiter züchten liessen: alle starben im Laufe der nächsten zwei Tage ab.

Die Mehrzahl der Eier des B-Versuches entwickelte sich aber ohne diese starken Störungen der Gastrulation in fast normaler Weise weiter. Schon am 26. März war ein Teil aus der Gallerte ausgeschlüpft; am 29. März konnte man beim Berühren mit einer Nadel die ersten schwachen Bewegungen bei einer Anzahl der Tiere auslösen. Die Kontrollarven begannen an diesem Tage schon, wenn auch noch unbeholfen, in dem Zuchtgefäss herumzuschwimmen und waren überhaupt sämtlich weiter entwickelt als die Embryonen des B-Versuches. Eine

Kontrollarve vom 29. März ist in Fig. 5 abgebildet. Zwei gleichaltrige Embryonen des B-Versuches sind in den Fig. 6 und 7 dargestellt. Es sind dies Larven, die wegen besonders starker pathologischer Veränderungen konserviert wurden. Sie zeigen deutlich die starke Verkürzung des Schwanzes und die Auftreibung des Leibes, an dem sich zottige Excrescenzen befinden. Ein Teil eines Querschnittes mit den starken Wucherungen an der Epidermis ist in Fig. 25 abgebildet. Innerhalb der aus Epidermiszellen gebildeten Zotten finden sich auch Nester von Dotterzellen, die schon frühzeitig während des Gastrulastadiums in die Wucherung hineingeraten sein müssen. Über dem Bereich der Zotten hat sich noch ein Rest der Keimblasenhöhle erhalten. (Vergleiche auch ähnliche Befunde in meiner Arbeit 1911, Taf. IX, Fig. 51, sowie O. Hertwig 1911, Taf. IV, Fig. 7 und 9.)

Sämtliche übrigen Larven des B-Versuches waren normaler entwickelt als diese beiden Embryonen. Alle aber waren im Wachstum hinter den Kontrollarven zurückgeblieben; besonders fiel immer die Verkürzung des Schwanzes und eine gewisse Auftreibung des Leibes auf. Auch die Kiemenfäden waren stets kürzer als normal. So kann es uns denn auch nicht wundernehmen, dass die Bewegungsfähigkeit der Larven des B-Versuches stark behindert war; während am 31. März die Kontrollarven schon flott im Wasser herumschwammen, lagen die Embryonen des B-Versuches noch unbeweglich am Boden des Gefässes; nur Berührung mit einer Nadel oder starke Erschütterung des Zuchtglases löste bei ihnen schwache zuckende Bewegungen des Schwanzes aus. Erst am 4. März, also 5 Tage später, waren die normalsten Larven imstande, sich, wenn auch noch unbeholfen, schwimmend im Wasser fortzubewegen. Einige Embryonen waren wieder abgestorben oder wurden wegen mangelnder Lebensfähigkeit oder starker Bauchwassersucht in Pikrinessigsublimat konserviert.

Eine gute Vorstellung von dem Verhältnis zwischen den normalen Kontrollarven und den Embryonen des B-Versuches geben uns die Fig. 8—12, die fünf Tiere vom 6. und 7. April zeigen. Besonders auffallend sind zunächst die Grössenunterschiede der Larven, die alle bei der gleichen 8 fachen Vergrösserung photographiert wurden. Die Kontrolltiere sind 1 cm resp. 1,1 cm lang, die Larven des Radiumversuches dagegen nur 0,7—0,75 cm, gemessen vom Kopf bis zum Schwanzende. Die Verkürzung des

Schwanzes ist dabei verhältnismässig erheblicher als die des Rumpfes. Der Breitenumfang des Larvenkörpers ist dagegen bei der Larve in Fig. 8 fast gar nicht gegen denjenigen der Kontrollarve (Fig. 9) reduziert; dagegen ist bei den einen die Anlage der hinteren Extremität schon sichtbar, bei den anderen wird sie noch ganz vermisst. Die Augen sind bei den Kontrolllarven, von aussen betrachtet, erheblich grösser und die Linse ist deutlich zu erkennen, während sie bei den Radiumtieren äusserlich nicht unterscheidbar ist. Auf Schnitten konnte man ähnliche Befunde wie bei der äusseren Betrachtung erheben. Im allgemeinen waren die einzelnen Organe der Larven des Radiumversuches ganz gut entwickelt, vielleicht noch nicht ganz so weit differenziert wie bei den Kontrollarven. Dagegen liess sich bei allen Organen eine Verkleinerung gegen die Norm mit Sicherheit feststellen. Vereinzelt, besonders bei dem Embryo der Fig. 10, fanden sich im Gehirn, im Rückenmark sowie der Retina eine Anzahl pathologischer Kerne, wie sie auch bei den Froschembryonen der B- und C-Serie in den Versuchen von O. Hertwig und mir häufig vorkommen und von uns früher genauer beschrieben sind. Bei dem auf der Fig. 11 abgebildeten Embryo fand sich ferner in den Ventrikelhöhlen des Gehirns sowie im Zentralkanal des Rückenmarks eine erhebliche Ansammlung von Blutzellen, so dass man den Eindruck eines Blutergusses in die Ventrikelhöhle empfing.

Die überlebenden Larven des Radiumversuches begannen im Laufe der nächsten Tage Nahrung zu sich zu nehmen, sie schwammen spontan im Zuchtgefäss umher, und unterschieden sich von normalen Tieren, abgesehen von ihrer geringen Grösse, nur durch die Trägheit ihrer Bewegungen und eine rasche Ermüdbarkeit bei den Schwimmbewegungen. Im Verlauf der nächsten 2—3 Wochen stellten sich jedoch auch bei ihnen deutliche Krankheitserscheinungen ein, sie zeigten zum Teil eine Auftreibung des Leibes durch Wassersucht, ihre Bewegungen wurden immer schwächer und sie mussten, wollte man sie zu späterer Untersuchung aufbewahren, konserviert werden. Drei von einer grösseren Anzahl Larven sind mit zwei gleichaltrigen Kontrollen in den Fig. 13—17 abgebildet. Die Gesamtlänge der drei Embryonen des Radiumversuches beträgt 0,75, 0,8 und 0,9 cm, gegen 1,2 und 1,4 cm der Kontrolltiere. Die in Fig. 16 abgebildete Larve ist die

älteste des Radiumversuches, sie hat ein Alter von 37 Tagen erreicht. bei ihr sind schon die Anlagen der hinteren Extremität äusserlich gut sichtbar.

Durchschnitte durch diese Larven sind in den Fig. 26—29, 32. 33 auf Taf. VII photographiert. Bei den photographischen Aufnahmen wurde stets dieselbe Vergrösserung gewählt, so dass man die Organe der Tiere des Radiumversuches und der Kontrolle gut miteinander vergleichen kann. In Fig. 26 ist nur das linke Auge im Schnitt median getroffen, so dass nur auf dieser Seite die Linse zu sehen ist; sie war jedoch auch auf der rechten Seite ebenso wie links ausgebildet.

Besonders auffallend sind auch hier wieder die beträchtlichen Grössenunterschiede zwischen den Organen der Radium- und der Kontrolltiere. Das Gehirn, die Augen mit der Linse, das Herz, alle diese Organe sind bei den Embryonen des Radiumversuches etwa nur halb so gross als bei den Normallarven, dabei aber durchaus wohlgebildet. Eine gewisse Ausnahme machen nur die Ohrbläschen, die in beiden Fällen fast gleich gross sind. In Fig. 28 gewinnt man den Eindruck, als wenn die Gehöranlagen für die sonstige Grösse des Embryo relativ zu gross wären und daher auf die Medulla einen seitlichen Druck ausgeübt hätten, der eine Kompression dieses Organes zur Folge gehabt hat. Ferner sind die Gehörorgane in ihrer Differenzierung beträchtlich gegen diejenigen der Kontrolltiere im Rückstand. Die Untersuchung aller übrigen Organe ergab die gleichen Ergebnisse. Der Darm, die Leberanlage, die Urniere, die Myotome waren stets bei den Radiumtieren viel kleiner als bei den Kontrolllarven, besonders bei der Leber war auch ein Zurückbleiben in der Differenzierung bemerkbar. Pathologische Kernbilder dagegen wurden bei allen diesen Tieren im Gegensatz zu den früher abgestorbenen Larven vom 6. und 7. April gänzlich vermisst. Sämtliche Organe machten, abgesehen von ihrer Kleinheit und zum Teil zurückgebliebenen Differenzierung, einen normalen Eindruck.

2. Entwicklungserregung von Eiern des grünen Wasserfrosches (Rana esculenta) durch radiumbestrahlten Samen des braunen Feldfrosches (Rana fusca).

Zu prinzipiell denselben Ergebnissen, wenn auch nicht zur Ausbildung fast normaler Larven wie bei den Krötenexperimenten,

führten die Versuche mit den Geschlechtsprodukten von Rana esculenta und fusca. Pflüger und Born haben übereinstimmend festgestellt, dass Eier von Rana esculenta durch Samen von Rana fusca in einem wechselnden Prozentsatz sich monosperm befruchten lassen und sich normal abfurchen. Sämtliche bastardierten Eier sterben aber am 2. oder 3. Tage nach der Befruchtung auf dem Blastulastadium ab, kein einziges Ei vermag zu gastrulieren.

Ich konnte dies Ergebnis durch einen Kontrollversuch bestätigen. Am 23. Mai 1912 wurde eine Anzahl Eier von Rana esculenta, die, wie eine Befruchtung mit artgleichem Samen zeigte, völlig normal beschaffen waren, mit Samen von Rana fusca übergossen. Die Samenflüssigkeit war wieder durch Zerzupfen eines Hodens von Rana fusca in 0,3 % Kochsalzlösung hergestellt. Das Froschmännchen war im März eingefangen und bis zum Mai im Terrarium gehalten worden. Nach Ablauf einer Stunde drehten zwölf Eier gemäss der Schwere ihren vegetativen weissen Pol nach unten, ein Zeichen der stattgehabten Befruchtung. Bei den übrigen Eiern, die sich nicht drehten, konnte man, teilweise sehr ausgeprägt, die schon von Born genau beschriebene „Eindellung“ wahrnehmen, so dass schliesslich die Eier, genau so wie ein schlaffer Gummiball, auf den von einer Seite her ein Druck ausgeübt wird, ihre runde Gestalt ganz einbüssten und völlig deformiert wurden. Wie diese sonderbare Erscheinung zustande kommt, vermag ich ebensowenig wie Born anzugeben. 3 Stunden nach der Befruchtung begannen sich die zwölf Eier normal in zwei Blastomeren zu teilen, im Verlauf der nächsten Stunde trat dann die Vierteilung ein. Am 25. Mai, wo die mit artgleichem Samen befruchteten Eier gastrulierten, standen die bastardierten Eier noch auf dem Blastulastadium, nur bei zwei Eiern hatte sich die animale Hälfte des Eies durch eine tiefe Rinne von der vegetativen Hälfte abgesetzt, so dass eine Bildung entstand, wie sie O. Hertwig in seiner Arbeit über die Radiumkrankheit in der Fig. 15, Taf. I für ein radiumkrankes Froschei abgebildet hat. Am 26. Mai waren alle Eier weisslich verfärbt und abgestorben.

Ganz anders war dagegen das Ergebnis, wenn man vor der Besamung die Spermien von Rana fusca der Einwirkung von Radiumstrahlen aussetzte. In der im Krötenexperiment

beschriebenen Weise bestrahlte ich den Samen von Rana fusca mit den Mesothoriumpräparaten von der Stärke 55 mg und 10 mg reinem Radiumbromid zwei Stunden lang im Abstand von 2 mm und besamte dann eine Anzahl Eier von Rana esculenta mit ihm. 3 Stunden später waren 14 Eier normal zweigeteilt.

Am 25. Mai, 2 Tage nach der Befruchtung, begannen diese Eier zu gastrulieren; sie waren in diesem Prozess im Vergleich zu den gleichaltrigen Kontrolleiern aus der Befruchtung mit artgleichem Samen weniger weit fortgeschritten; denn es zeigte sich erst eine hufeisenförmige Urmundrinne, während bei der Kontrolle der Urmund schon ringförmig und der Blastoporus ziemlich eng war.

Am 28. Mai bemerkte man im Radiumversuch zwei Spinae bifidae, sowie zehn normaler entwickelte kleine Embryonen mit beginnender Bauchwassersucht, die im Verlauf der nächsten Tage erheblich zunahm, so dass am 3. Juni drei Embryonen konserviert werden mussten. Sie sind in den Fig. 19—21 mit einer gleichaltrigen Kontrollarve (Fig. 18, Taf. VI) abgebildet. Sie waren vor dem Abtöten schon aus der Gallerte ausgeschlüpft, lagen aber regungslos auf dem Boden des Gefässes; bei Berühren mit einer Nadel führten sie mit dem verkrüppelten Schwanze schwache, zuckende Bewegungen aus.

Am 5. Mai war ein Embryo des Radiumversuches zerfallen, zwei weitere wurden fixiert, der eine von ihnen ist mit einer Kontrolle in Fig. 22 und 23 bei 8facher Vergrösserung photographiert. Man erkennt wieder deutlich bei dem Embryo des Radiumversuches die Auftreibung des Leibes, die Kürze des Schwanzes und die Verkümmerung der Kiemenfäden. Man sieht ferner auf der Abbildung die Haftnäpfe und die Nasengrübchen. Die Untersuchung auf Serienschnitten ergab ferner, dass die Ohrbläschen gebildet und auch die Augen, wenn auch in etwas verkümmerter Weise, angelegt waren. Vereinzelte pyknotische Kerne fanden sich im Gehirn und in dem Augenbecher.

Die übrigen Larven des Radiumversuches, die ungefähr denselben Anblick wie der Embryo in Fig. 22 darboten, liessen sich noch einige Tage länger am Leben erhalten; am 8. Mai, also 16 Tage nach der Besamung, waren sie jedoch sämtlich plötzlich abgestorben und zerfallen.

3. Radiumbestrahlung unbefruchteter Kröteneier (Bufo vulgaris) und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit Froschsamen (Rana fusca).

Das Gegenstück zu den in den beiden ersten Abschnitten beschriebenen Experimenten bilden die Versuche, zu deren Beschreibung wir uns nunmehr wenden wollen. In ihnen wurden nicht die Samenfäden, sondern die unbefruchteten Eier den Radiumstrahlen ausgesetzt, entsprechend der von mir untersuchten C-Serie an den Keimzellen von Rana fusca. Ich stellte in meiner früheren Arbeit fest, dass sich in der C-Serie durch Variieren der Intensität der Bestrahlung eine entsprechende Kurvenbildung in der Entwicklungsdauer erzielen lässt, wie in der B-Serie von O. Hertwig. Ich wies ferner nach, dass das unbefruchtete Ei gegen die Radiumstrahlen empfindlicher ist als der Samenfaden, so dass in den Versuchen der C-Serie eine kürzere, schwächere Bestrahlung denselben Effekt ergibt, als eine entsprechend intensivere in der B-Serie. Untersuchungen, die ich dann im Jahre 1911 mit zwei Mesothoriumpräparaten von der Stärke 55 mg und 30 mg reinem Radiumbromid vornahm, führten zu dem Ergebnis, dass hier schon eine Bestrahlung von 5—10 Minuten dieselben Resultate ergibt, als früher die 1—2stündige Bestrahlung mit den schwachen Präparaten von 2—7 mg Radiumbromid, die ich im Jahre 1910 benutzte. Ich wählte daher auch in den hier zu beschreibenden Experimenten mit den starken Mesothoriumpräparaten diese kurzen Expositionszeiten.

Die unbefruchteten Kröteneier (Bufo vulgaris) wurden in der in meiner früheren Arbeit genau geschilderten Weise im Abstand von 5 mm den Strahlen der Mesothoriumpräparate I = 55 mg reines Radiumbromid oder III = 15 mg reines Radiumbromid 5—15 Minuten lang ausgesetzt, dann wurden sie mit einer stark verdünnten Samenflüssigkeit von Rana fusca übergossen. 3 Stunden später begannen sich die Eier zu furchen. Es machte sich nun bei diesen Experimenten die bei dieser Kreuzung, wie schon erwähnt, leicht eintretende Polyspermie sehr unangenehm bemerkbar. Es kann kein Zweifel sein, dass die schädliche Einwirkung der Radiumstrahlen die an und für sich schon bestehende Neigung der Eier zur Mehrfachbefruchtung noch gesteigert hat; denn trotz der starken Verdünnung der

Samenflüssigkeit erfolgte nur bei einem geringen Prozentsatz der Eier eine normale Zwei- und Vierteilung. Die meisten Eier waren barock gefurcht. Die normal viergeteilten Eier wurden isoliert und gezählt, nur ihr Schicksal interessiert uns hier.

Ich stelle im folgenden die Zahl der normal viergeteilten Eier, die ich aus einer grösseren Anzahl Bestrahlungsversuchen erhielt, nach der Intensität der Bestrahlung geordnet, zusammen.

5 Eier,	vor	der	Befruchtung	5	Minuten	mit	Mesothorium	III	bestrahlt
4 „	„	„	„	5	„	„	„	I	„
3 „	„	„	„	10	„	„	„	III	„
3 „	„	„	„	10	„	„	„	I	„
4 „	„	„	„	15	„	„	„	III	„

Alle diese 19 Eier furchten sich normal, starben aber sämtlich am 3. Tage nach der Befruchtung auf dem Blastulastadium ab, ohne eine Spur vom Beginn der Gastrulation zu zeigen, genau so wie unbestrahlte Kröteneier, die mit Samen von Rana fusca befruchtet waren. Auf die Erklärung und die theoretische Bedeutung dieser Versuchsergebnisse werde ich erst später im allgemeinen Teil in einem besonderen Abschnitt (S. 118) eingehen.

B. Allgemeiner Teil.

Wenn wir nunmehr das Hauptresultat unserer Versuche, soweit sie in den beiden ersten Abschnitten des experimentellen Teiles meiner Arbeit beschrieben sind, zusammenfassen, so können wir sagen: Eier von Bufo vulgaris und Rana esculenta, die mit Samen von Rana fusca befruchtet werden, sterben nach normaler Furchung vor der Gastrulation auf dem Blastulastadium ab. Wird dagegen der Samen von Rana fusca vor seiner Verwendung zur Kreuzbefruchtung intensiv mit Radium bestrahlt, so entwickeln sich die Eier von Bufo vulgaris und Rana esculenta, die mit diesem geschädigten Sperma besamt wurden, stets über das Gastrulastadium hinaus zu Larven, die ein Alter von mehreren Wochen erreichen.

Wie ist dieses paradoxe Resultat zu erklären, dass bei artfremder Kreuzbefruchtung normaler Samen eine bedeutend schlechtere, rascher den Tod herbeiführende Entwicklung einleitet, als durch Radium schwer geschädigter, kranker Samen?

1. Die disharmonische Idioplasmaverbindung als Ursache für das Absterben des Kreuzungsproduktes auf dem Blastulastadium.

Zur Beantwortung dieser Frage müssen wir uns zunächst einmal über die Ursachen klar werden, die die Erkrankung des Kreuzungsproduktes auf dem Blastulastadium herbeiführen. Schon Born sprach die Vermutung aus, dass die im Ei bei artfremder Bastardierung vereinigten väterlichen und mütterlichen Entwicklungstendenzen sich nicht organisch vereinigen liessen und daher eine pathologische Entwicklung herbeiführten. Einen greifbaren morphologischen Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme hat vor kurzem Baltzer führen können. Er zeigte bei Seeigelkreuzungen, dass in dem kritischen Blastulastadium die bis dahin gesund aussehenden und normal sich teilenden Bastardkerne plötzlich erkranken, ihre regelmässige Form verlieren und sich ungleichmässig mit Farbstoffen färben lassen; Chromatinteile werden aus den Kernen ausgestossen, und die Degeneration der Kerne führt schliesslich den Tod der Bastardkeimblase herbei.

Ähnliche Prozesse spielen sich nun auch bei den beiden von mir benutzten Amphibienkreuzungen ab. Auch hier erkranken, wie die mikroskopische Untersuchung ergeben hat, die in einem Kern vereinigten artfremden Kernsubstanzen nach anfänglich normaler Vermehrung auf dem Blastulastadium. Sie bilden eben, um einen Ausdruck von O. Hertwig zu gebrauchen, eine disharmonische Idioplasmaverbindung.

2. Die frühzeitige Elimination des artfremden Chromatins infolge der Radiumbestrahlung. Der radiumbestrahlte Samenfaden ist nur als entwicklungserregender Faktor wirksam.

Nun habe ich am Seeigelei morphologisch den sicheren Nachweis erbringen können, dass durch lange Radiumbestrahlung das Spermachromatin vermehrungsunfähig wird und in vielen Fällen nicht mehr mit dem Eikern verschmilzt; vielmehr teilt sich der Eikern allein und bildet die Furchungskerne der beiden ersten Blastomeren. Nach Analogie der Erscheinungen beim Seeigel dürfen wir wohl auch für unsere Experimente der Kombination von Bastardierung und intensiver Radiumbestrahlung als sicher annehmen, dass auch hier eine Verschmelzung der beiden Kerne ausbleibt, dass der geschädigte Samenkern zur Teilung und Vermehrung unfähig geworden ist, und dass der

Eikern allein die Furchungskerne liefert. Ist diese Annahme aber richtig, so fällt auch jeder Grund für eine Erkrankung der Kerne auf dem Blastulastadium, wie sie im Kontrollexperiment stattfindet, fort. Denn die Ursache zu der Erkrankung, die Vereinigung der beiden Bastardidioplasmen zu einer disharmonischen Verbindung, ist ja bei den Radiumexperimenten durch die frühzeitige Elimination des artfremden, radiumkranken Spermachromatins beseitigt. Die Entwicklung nimmt jetzt über das Blastulastadium hinaus ihren Fortgang. Wir müssen sie, da nur der haploide Eikern sie leitet, als eine parthenogenetische bezeichnen.

Das artfremde Radiumspermatozoon hat also nur als entwicklungserregender Faktor gewirkt, genau so wie in den Experimenten Kupelwiesers die stammfremden Spermien von Mollusken und Würmern das Seeigelei zur Entwicklung anregen: eine Beeinflussung der Entwicklung ist infolge der Ausschaltung des Spermachromatins, des Idioplasma, nicht möglich, wenn wir nicht dem Centrosom, das von dem Samenfaden in das Ei eingeführt wird und nach der Meinung Boveris und vieler anderer Cytologen als wichtiges Zellorgan anzusehen ist, einen Einfluss auf die Entwicklung zuschreiben wollen. Denn es kann als sicher angesehen werden, dass auch im Radiumversuch die Entstehung der Strahlung, unter deren Einwirkung sich der Eikern teilt, auf den eingedrungenen Samenfaden zurückzuführen ist.

Bei der Befruchtung von Kröteneiern mit normalem Froschsperma entsteht nämlich, wie Bataillon festgestellt hat, an dem eingedrungenen Samenkern eine Strahlung, die sich genau so wie die von einem artgleichen Spermakern hervorgerufene verhält. Nach meinen Untersuchungen am Seeigel erleidet nun die Strahlung, die an dem Spermakern im Ei entsteht, durch intensive Radiumbestrahlung des Samenfadens keine Veränderung. Wenn der Samenkern durch das Radium schwer geschädigt ist, löst sich die Strahlung von dem Spermakern, wandert allein auf den Eikern zu und veranlasst dessen Teilung, ohne eine Schädigung durch die Radiumbestrahlung erkennen zu lassen. Demnach dürfen wir also auch bei unseren Radiumexperimenten an Kröteneiern ein gleiches Verhalten der Strahlung erwarten.

Nehmen wir mit Boveri an, die Strahlung sei durch ein besonderes Zellorgan, durch das vom Samenfaden in das Ei eingeführte Centrosom hervorgerufen, so müssten unsere Larven

des Radiumversuches doch in gewissem Grade noch als Bastardlarven bezeichnet werden; sie besässen zwar infolge der Degeneration des Spermachromatins reine Krötenkerne, aber ihr Centrosom, das Zellteilungsorgan, stammte ja vom Frosch. Wäre diese Vorstellung richtig, so sollte man doch eigentlich nach Analogie der Erscheinungen, wie wir sie bei dem disharmonischen Zusammenwirken zweier artfremder Kerne bei den Bastardierungsexperimenten beobachtet haben, Störungen der Zellteilungen und der Gesamtentwicklung bei unseren Larven bemerken, die auf das artfremde Centrosom zurückzuführen wären. Das Centrosom, das für den Frosch charakteristisch und auf seine Zellen abgestimmt ist, müsste im Krötenei versagen oder doch mindestens in seiner Funktion gestört sein. Nun treten ja bei unseren Krötenlarven des Radiumversuches, wie im experimentellen Teil beschrieben ist, allerhand pathologische Störungen auf, und es ist nunmehr zu erwägen, ob diese etwa auf ein artfremdes Centrosom zurückgeführt werden können.

Wäre wirklich das artfremde Centrosom für die Krankheitserscheinungen der parthenogenetischen Krötenlarven verantwortlich zu machen, so müssten wir erwarten, dass z. B. Froscheier, die mit gleich intensiv bestrahltem Froschsamen besamt sind, sich wegen der Artgleichheit des Centrosoms besser und normaler auf parthenogenetischer Grundlage entwickeln als die Kröteneier in unserem Versuche. Der Ausfall eines entsprechenden Experimentes bestätigte aber durchaus nicht diese Vermutung, wie folgender Versuch deutlich zeigt.

Mit einem Teil desselben 4½ Stunde lang mit Mesothorium bestrahlten Froschsamens, der zu dem Krötenexperiment gedient hatte, wurden gleichzeitig gesunde Eier von Rana fusca besamt. Alle die aus diesen Eiern gezüchteten Embryonen starben spätestens 14 Tage nach der Besamung unter den Erscheinungen der Bauchwassersucht in der von O. Hertwig beschriebenen Weise ab. Die Larven aus den Kröteneiern erreichten dagegen zum Teil ein Alter von 4—5 Wochen und waren auch sonst zum grossen Teil normaler entwickelt als die Froschlarven.

Nach dem Ausfall dieses Experimentes können wir es als bewiesen ansehen, dass nicht ein artfremdes Centrosom für die pathologische Entwicklung der Krötenlarven unseres Versuches verantwortlich gemacht werden kann. Es macht vielmehr für die

Entwicklungsfähigkeit der parthenogenetischen Larven keinen Unterschied aus, ob die Eier, aus denen sie sich entwickeln, von einem artgleichen oder artfremden radiumbestrahlten Samenfaden besamt worden sind. Auf Grund dieser Ergebnisse lässt sich nach meiner Meinung die von Boveri begründete Vorstellung über die Natur des Centrosoms und seine Bedeutung nicht mehr aufrecht erhalten. Wir können in ihm nicht mehr ein besonderes, für jede Tierart charakteristisches, im Zellenleben eine wichtige Rolle spielendes Zellorgan, wie es etwa der Kern ist, erblicken.

Zu demselben Resultat ist schon früher Kupelwieser gekommen, der bei der Besamung von Seeigeleiern durch stammfremde Spermien beobachtete, dass die Strahlung, die an dem Samenkern entstand, in dem stammfremden Plasma sich völlig normal verhielt, und dass der Eikern sich unter ihrem Einfluss normal teilte. Kupelwieser zieht aus diesen Beobachtungen den Schluss, dass kein spezifischer Stoff, noch viel weniger ein spezifisches Teilungsorgan von dem Samenfaden in das Ei eingeführt wird, sondern „dass überall im Tierreich der gleiche entwicklungserregende Stoff vom Spermakern geliefert wird“.

Auch vom morphologischen Standpunkt sind neuerdings, wie ich nur kurz erwähnen will, von F. R. Lillie auf Grund seiner Experimente an Nereis gegen die Anschauungen, die Boveri über das Centrosom geäussert hat, schwerwiegende Einwände erhoben worden.

Auf Grund der soeben angeführten Erörterungen sind wir zu dem Schluss gekommen, dass die mit Radium bestrahlten Samenfäden die artfremden Eier nur zur Entwicklung anregen, jedoch weder durch Einführung eines vermehrungsfähigen Kernes oder eines spezifischen Teilungsorganes die weitere Entwicklung der Eier in irgend einer Weise beeinflussen. Wir müssen daher die Entwicklung der mit dem Radiumsperma besamten Eier als eine rein parthenogenetische bezeichnen. Im folgenden soll nun eine weitere Beobachtung mitgeteilt werden, die wohl jeden Zweifel an der Richtigkeit meiner Erklärung der Versuchsergebnisse ausschliesst; es ist dies die durch Kernmessung von mir festgestellte Tatsache, dass die

Kerne der angeblich parthenogenetischen Krötenlarven tatsächlich nur halb so grosse Kerne als die normalen Kontrollarven besitzen, dass ihre Kerne also, entsprechend ihrer Abstammung allein vom Eikern, haploid oder nach Boveris Terminologie thelykaryotisch sind.

4. Die durch Kernmessung festgestellte haploide Beschaffenheit des Kernapparates der parthenogenetischen Larven des Radiumversuches.

Boveri hat, gestützt auf Untersuchungen an Ascaris und Echiniden, die von ihm, Morgan, Herla, Zoja und zur Strassen vorgenommen wurden, entgegen den Angaben von Delage festgestellt, dass „eine abnorme Chromosomenzahl des Eies, falls nicht eine weitere Abnormität, wie z. B. Monasterbildung oder Kernverschmelzung, interveniert, sich sicher bis zum Gastrulastadium erhält. Eine Regulation zur Normalzahl findet nicht statt.“ Ferner wies er durch Untersuchung hemi-, amphi- und diplokaryotischer Seeigellarven nach, dass „die Kernoberfläche der Chromosomenzahl direkt proportional ist“. Zahlreiche Untersuchungen, wie die von Baltzer, Godlewski, Herbst und Kupelwieser, haben diese von Boveri formulierten Regeln an Seeigelmaterial bestätigt. Auch von botanischer Seite liegen einige bemerkenswerte Arbeiten auf diesem Gebiete vor, so die Untersuchungen von Gerassimow an Spirogyra, ferner die Arbeiten von Él. und Ém. Marchal an künstlich diploiden und tetraploiden Moosen, von Gates an Oenothera gigas und Tischler an uni-, bi- und trivalenten Rassen von Musa. Abweichend allerdings von Boveri stellten sie für ihre Objekte übereinstimmend fest, dass nicht die Oberflächen, sondern die Volumina der Kerne ihrer Chromosomenzahl proportional sind.

Die Gültigkeit dieser Regeln für die Larven von Wirbeltieren vorausgesetzt, boten sich zwei Wege, um die diploide oder haploide Beschaffenheit der Kerne unserer Versuchslarven festzustellen. Entweder mussten an Mitosen die Chromosomen gezählt werden, oder die Kerngrössen mussten gemessen und mit denen normaler Kontrolltiere verglichen werden.

Von vornherein hielt ich den ersten Weg nicht für gangbar; denn es ist besonders bei den Krötenlarven auf späten Entwicklungsstadien unmöglich, bei den Mitosen der somatischen Zellen die

Chromosomenzahl auch nur annähernd genau zu bestimmen. So sind denn auch Bataillon, Dehorne und Brachet bei ihren Chromosomenzählungen an parthenogenetischen Larven, die aus angestochenen Eiern gezüchtet wurden, zu keiner sicheren Entscheidung über die Zahl der Chromosomen gekommen.

Aussichtsreicher, wenigstens für die Larven der Kröten und Frösche mit ihren für die Chromosomenzählung ungünstigen Kernen, schien mir daher der Vergleich der Kerngrössen zu sein. Sonderbarer Weise ist diese Methode bisher noch gar nicht an den parthenogenetischen Froschlarven, die durch Anstich der Eier gewonnen wurden, angewandt worden. Dagegen haben bei polyspermen Froscheiern Brachet und Herlant beobachtet, dass die Embryonen, die sich aus diesen Eiern züchten liessen, in verschiedenen, oft benachbarten Körperregionen Kerne von ganz wechselnder Grösse besitzen. Herlant hat bei dispermen Embryonen nachgewiesen, dass die grossen Kerne Deszendenten des Amphikaryons aus Sperma- und Eikern sind, die kleinen Kerne dagegen ihren Ursprung auf ein Hemikaryon, einen Spermakern, zurückführen. Leider hat Herlant es aber unterlassen, Messungen an den Larvenkernen vorzunehmen; nach den von Herlant (1911) in den Fig. 100 und 101 abgebildeten, bei gleicher Vergrösserung gezeichneten Kernen des Rückenmarks ergibt sich ungefähr ein Verhältnis von 1 : 2, wenn man die Volumina der kleinen und grossen Kerne berechnet und miteinander vergleicht.

Ehe ich die Resultate meiner Kernmessungen anführe, will ich kurz auf die Methode der Kerngrössenbestimmung und -vergleichung eingehen und auf einige Fehlerquellen hinweisen, die hierbei vermieden werden müssen. Zunächst dürfen nur solche Larven auf ihre Kerngrössen hin miteinander verglichen werden, die aus gleichgrossen Eiern bei identischer Temperatur gezüchtet sind. Denn Chambers hat nachgewiesen, dass sowohl Embryonen, die von grossen Eiern abstammen, als auch Larven, die sich bei niedriger Temperatur entwickeln, grössere Zellkerne besitzen, als Tiere aus kleinen Eiern oder bei höherer Temperatur gezüchtete Larven. Das von mir benutzte Eimaterial stammte in dem Radium- und dem Kontrollversuch von demselben Krötenweibchen und war ferner unter sich sehr gleichartig in bezug auf die Eigrösse. Die Larven in beiden Versuchen entwickelten sich bei derselben Zimmertemperatur.

Selbstverständlich ist ferner, dass nur solche Larven miteinander auf die Kerngrössen verglichen werden können, die bei der Fixierung, der Alkoholbehandlung und der Paraffindurchtränkung gleichmässig behandelt worden sind, und dass nur Kerne gleicher Organe zum Vergleich herangezogen werden.

Die Kerngrösse wurde entweder an Larvenschwänzen, die mit Boraxkarmin durchgefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen waren, oder an Paraffinschnittmaterial bestimmt. Die Kerne wurden teils mit dem Abbeschen Zeichenapparat, teils mit dem Leitzschen Projektionsapparat gezeichnet und an den Zeichnungen der grösste und der kleinste Durchmesser bestimmt. Jedesmal wurden 20—30 Kerne gemessen und dann aus dem Gesamtresultat dieser Messungen der mittlere Radius berechnet. Dieser mittlere Radius ergab dann ins Quadrat oder in die dritte Potenz erhoben die Zahlen, aus deren Vergleich sich das Verhältnis der Kernoberflächen resp. der Kernvolumina berechnen lässt. Die Fehler dieser Methode der Oberflächen- und Volumenbestimmung aus einem berechneten mittleren Radius sind ohne weiteres klar, heben sich aber bei einem Vergleich der Kernoberflächen resp. Kernvolumina der Radium- und der Kontrolltiere in ihrer Wirkung wieder ungefähr auf, so dass diese Art der Berechnung, die auch von Gates und Tischler gewählt wurde, doch zu brauchbaren Resultaten führt.

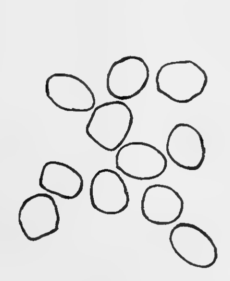


Fig. 1.
Flossensaumepithelkerne einer 28 Tage alten parthenogenetisch. Krötenlarve. Vergr. ca. 750 fach.

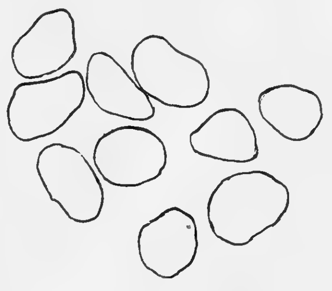


Fig. 2.
Flossensaumepithelkerne einer gleichaltrigen Kontrollarve. Vergr. wie bei Fig. 1.

Es wurden auf diese Weise die Kerne des Schwanzepithels, die Kerne der Leber und des Rückenmarks gemessen. Ich gebe die Resultate in Tabellenform, in denen die Bezeichnung Rad. = Tier des Radiumversuches, Co. = Tier des Kontrollversuches bedeuten.

Tabelle I. Flossensaumepithel (Vergrösserung 750 : 1).

Rad. oder Co.	Alter in Tagen	Mittlerer Radius r	r^2	r^3
Rad.	15	0,3	0,09	0,027
Co.	15	0,4	0,16	0,064
Rad.	16	0,3	0,09	0,027
Rad.	16	0,29	0,084	0,024
Rad.	16	0,27	0,073	0,02
Co.	16	0,4	0,16	0,064
Co.	16	0,39	0,152	0,059
Rad.	28	0,28	0,078	0,022
Co.	28	0,42	0,176	0,074
Rad.	29	0,27	0,073	0,02
Co.	29	0,43	0,185	0,079
Rad.	32	0,28	0,078	0,022
Co.	32	0,36	0,13	0,047

Man sieht aus dieser Tabelle, dass sich die Quadrate der mittleren Radien der Radiumtiere zu denen der Kontrolltiere ungefähr wie 1 : 2 verhalten. Noch deutlicher tritt dies zutage, wenn wir aus allen Zahlen für die r^2 der Radium- wie der Kontrolltiere je eine mittlere Zahl für r^2 berechnen, dann findet sich die Zahl 0,081 für Rad. r^2, 0,16 für Co. r^2, also genau das Verhältnis 1 : 2. Unsere Berechnung ergibt also, dass die Kernoberflächen der Flossensaumepithelien der parthenogenetischen Larven zu denen der Kontrolltiere sich wie 1 : 2 verhalten. Vergleicht man die Zahlen von r^3 miteinander, so findet man ungefähr ein Verhältnis von 1 : 3, d. h. die Volumina der Flossensaumepithelkerne der Radiumtiere verhalten sich zu denen der Normaltiere wie 1 : 3. Die Textfig. 1 und 2 geben uns eine gute Vorstellung von den beträchtlichen Grössenunterschieden der Flossensaumepithelien einer 28 Tage alten parthenogenetischen und einer ebenso alten Normallarve.

In der folgenden Tabelle sind die Leberkerne bei 1000facher Vergrösserung gemessen. Hier ergibt der Vergleich, dass nicht die r^2, sondern die r^3 bei den Radiumtieren und den Kontrolltieren sich wie 1 : 2 verhalten, die Unterschiede der Kerngrössen also geringer wie im ersten Beispiel sind. Berechnet man wieder aus der Gesamtsumme der r^3 dividiert durch die Zahl der gemessenen Tiere eine mittlere Zahl für r^3 sowohl bei den parthenogenetischen als auch bei den Kontrolltieren, so ergibt sich das Verhältnis Rad. $r^3 = 0{,}0225$ zu Co. $r^3 = 0{,}0498$, also ungefähr das Verhältnis 1 : 2. Daraus folgt: Die Volumina der Leberkerne der parthenogenetischen Tiere verhalten sich zu denen der Kontrolltiere wie 1 : 2. Auf Taf. VII sind in den Fig. 34 und 35 Leberkerne einer normalen und einer parthenogenetischen Krötenlarve bei 1000facher Vergrösserung abgebildet.

Tabelle II. Leberkerne (Vergrösserung 1000fach).

Rad. oder Co.	Alter	Mittlerer Radius r	r^2	r^3
Rad.	15	0,28	0,078	0,022
Co.	15	0,36	0,13	0,047
Rad.	28	0,29	0,084	0,024
Co.	28	0,38	0,144	0,055
Rad.	29	0,29	0,084	0,024
Co.	29	0,38	0,144	0,055
Rad.	32	0,27	0,073	0,02
Co.	32	0,35	0,123	0,043

Ebenso ergab die Messung der Ganglienzellen des Rückenmarks je zweier parthenogenetischen und zweier gleichaltrigen normalen Krötenlarven, dass sich ihre Volumina wie 1 : 2 verhalten.

Tabelle III. Ganglienzellen des Rückenmarks (Vergrösserung 1000 fach).

Rad. oder Co.	Alter	Mittlerer Radius r	r ²	r ³
Rad.	28	0,345	0,119	0,041
Co.	28	0,439	0,193	0,084
Rad.	29	0,356	0,126	0,45
Co.	29	0,44	0,194	0,085

Zum Vergleich der Kerngrössen verweise ich auf die Fig. 30 und 31 auf Taf. VII. Schliesslich wurden noch in einem Fall die Kerne der vorderen Extremitätenanlage bei einer 29 Tage alten parthenogenetischen und einer gleichaltrigen Kontrollarve miteinander verglichen. Hier ergab die Messung, dass die Oberflächen der Kerne sich ungefähr wie 1 : 2 verhalten. Die Grössenunterschiede sind also hier ebenso wie bei den Flossensaumepithelkernen grösser als bei den Leber- und Ganglienzellen. In Textfigur 3 und 4 sind Kerne der vorderen Extremitätenanlage bei 1000 facher Vergrösserung zum Vergleich reproduziert.

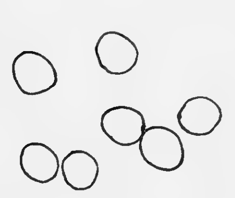


Fig. 3.
Kerne der vorderen Extremitätenanlage einer 29 Tage alten parthenogenetischen Larve. Vergr. 1000 fach.

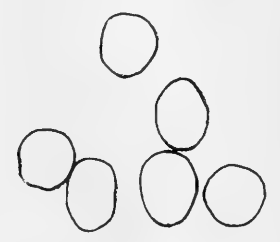


Fig. 4.
Kerne der vorderen Extremitätenanlage einer gleichalten normalen Krötenlarve. Vergr. 1000 fach.

Auf weitere Organe habe ich meine Kernmessungen nicht ausgedehnt, ich habe aber festgestellt, dass auch die Kerne der übrigen Organe stets bei den parthenogenetischen Tieren erheblich kleiner als bei den Kontrolltieren sind. Ebenso konnte man unschwer konstatieren, dass entsprechend der reduzierten Kerngrösse auch die Zellgrösse herabgesetzt war, so dass die Kernplasmarelation ein normales Verhältnis aufwies. Ich ver-

weise auf die Abbildungen von Knorpelzellen auf der Fig. 36 und 37 auf Taf. VII, die dieses Verhältnis schön illustrieren, und bemerke noch besonders, dass auch die Blutzellen bei den parthenogenetischen Tieren erheblich kleiner sind als bei den normalen Larven. Das Resultat der Kernmessungen können wir also dahin zusammenfassen, dass in einzelnen Organen die Kernoberflächen, in anderen die Kernvolumina der parthenogenetischen Larven zu denen der Kontrollarven sich wie 1 : 2 verhalten. Weitere Beobachtungen haben gezeigt, dass entsprechend den kleineren Zellkernen auch die Zellgrösse eine Volumenverminderung erfahren hat, so dass die Kernplasmarelation sich wie in der Norm verhält.

5. Die Ursachen der Lebensunfähigkeit der parthenogenetischen Larven in den Radiumversuchen.

Nach dem Ergebnis der Kernmessungen kann es wohl keinem Zweifel mehr unterliegen, dass die Entwicklung der Kröteneier, die mit radiumbestrahltem Froschsperma besamt wurden, mit Recht als eine parthenogenetische von mir bezeichnet wird; denn die aus diesen Kröteneiern gezüchteten Larven besitzen haploide, allein vom Eikern abstammende Kerne. Somit könnten wir die Resultate unserer Versuche durch die Annahme einer durch das artfremde Radiumsperma induzierten Parthenogenese für völlig erklärt ansehen, wenn nicht ein Punkt uns mit der herrschenden Anschauung über die Entwicklung künstlich parthenogenetischer Tiere im Widerspruch zu stehen schiene. Es ist dies die mangelhafte Lebensfähigkeit unserer parthenogenetischen Frosch- und Krötenlarven.

Boveri hat, gestützt auf seine Dispermie- und Merogonieversuche, die Lehre aufgestellt, dass eine vollständige halbe Chromosomengarnitur, mag sie nun von dem Ei- oder dem Samenkern allein geliefert werden, zu einer normalen Entwicklung, wenigstens bis zum Pluteusstadium, ausreicht. Die Gültigkeit dieses Satzes Boveris wurde nun nach der Ansicht zahlreicher Forscher durch weitere Experimente auch für die Entwicklung bis zum ausgebildeten Seeigel und ferner auch für Amphibien bewiesen. Delage gibt an, dass ihm die Aufzucht parthenogenetischer Seeigel bis zum metamorphosierten Tiere gelungen sei, Bataillon berichtet über drei völlig normale parthenogenetische, in der Metamorphose begriffene Froschlarven, die er

durch seine Anstichmethode der unbefruchteten Eier erhielt. Mit diesen Ergebnissen harmonieren nun die Resultate unserer Parthenogeneseversuche durchaus nicht; bei unseren Experimenten an Fröschen und Kröten haben wir stets konstatieren müssen, dass die parthenogenetischen Larven mehr oder minder lebensunfähig sind, stets viel kleiner als normale Kontrollarven bleiben und mannigfaltige pathologische Störungen aufweisen. Wie sind diese einander scheinbar widersprechenden Resultate zu erklären?

Zunächst ist zu den angeführten Experimenten von Delage und Bataillon zu bemerken, dass weder bei den parthenogenetischen Seeigeln noch auch bei den parthenogenetischen Fröschen die Chromosomenzahl bestimmt ist, so dass die haploide Natur ihres Kernapparates nicht erwiesen ist. Wissen wir doch, dass gerade bei der durch chemische Mittel hervorgerufenen künstlichen Parthenogenese häufig durch Monasterbildung eine Regulation der Chromosomenzahl stattfindet. Die Vorgänge aber, die sich in dem durch Anstich zur Entwicklung angeregten Froschei abspielen, sind uns noch völlig unbekannt. Es wäre denkbar, dass hier, wenigstens in vereinzelten Fällen, die Abschnürung des zweiten Richtungskörpers nicht erfolgt, vielmehr der Kern des zweiten Richtungskörpers wieder mit dem Eikern verschmilzt, ein Vorgang, wie er beim Seestern von O. Hertwig zuerst beschrieben und kürzlich von Buchner bestätigt wurde. So würde wieder ein diploider Eikern geschaffen sein. Je nachdem eine Regulation der Chromosomen zur Normalzahl stattfindet oder ausbleibt, oder nur unvollkommen erfolgt, würden sich dann auch vielleicht die im allgemeinen sehr variabeln Entwicklungsresultate bei den Versuchen Bataillons erklären, der ja von 10000 angestochenen Eiern etwa 120 Embryonen, aber nur drei normale lebensfähige Larven erzielte. Dafür, dass tatsächlich in manchen Fällen eine Regulation der Chromosomen zur Normalzahl stattfindet, sprechen die Angaben von Brachet, der an einer nach der Anstichmethode gewonnenen parthenogenetischen Froschlarve eine höhere Chromosomenzahl als die haploide feststellte. Ist aber die Chromosomenzahl in den Versuchen von Delage und Bataillon nicht die haploide, dann sind die günstigen Resultate der beiden Forscher gar nicht mit meinen Parthenogeneseversuchen zu vergleichen, bei denen es sich sicher um eine Entwicklung mit reduzierter haploider Chromosomenzahl handelt.

a) Nicht völlige Elimination des radiumbestrahlten Spermachromatins.

Nach diesen Vorbemerkungen wollen wir uns jetzt der Frage zuwenden, wie die pathologische Entwicklung der parthenogenetischen Frosch- und Krötenlarven in unseren Versuchen zu erklären ist. Zunächst müssen wir die Möglichkeit ins Auge fassen, dass die Ausschaltung des Spermakerns von der Entwicklung keine vollständige ist. Diese Annahme erscheint nach den Ergebnissen meiner Untersuchung am Seeigelei durchaus berechtigt; denn hier beeinflusst der Samenkern durch Verschmelzung mit dem Eikern oder einem der haploiden Furchungskerne die Weiterentwicklung in höchst ungünstiger Weise. Ferner hat Kupelwieser bei seinen Bastardierungsversuchen nachweisen können, dass das stammfremde Spermachromatin durch mechanische Beeinflussung der ersten Mitose eine unregelmässige Verteilung der rein mütterlichen Chromosomen auf die beiden ersten Blastomeren bewirken kann, und führt darauf gewisse Krankheitserscheinungen seiner parthenogenetischen Larven zurück. Es ist klar, dass auch bei unseren Parthenogeneseversuchen das Radiumchromatin trotz seiner Vermehrungsunfähigkeit in ähnlicher Weise wie bei Kupelwieser einen schädlichen Einfluss auf die Eientwicklung gewinnen kann.

Somit scheint mir für die pathologische Entwicklung einer ganzen Anzahl von Embryonen, besonders für die Fälle mit abnorm verlaufender Gastrulation, eine mangelhafte Elimination des Radiumchromatins und eine schädliche Beeinflussung des normalen Eikerns in erster Linie verantwortlich gemacht werden zu können. So erklären sich vielleicht die im experimentellen Teil erwähnten Hemiembryones laterales am einfachsten auf die Weise, dass die erste Mitose des Eihalbkerns durch Einwirkung des Radiumchromatins unregelmässig erfolgt ist, oder dass der Spermakern bei der Eiteilung in eine der ersten Blastomeren zu liegen gekommen ist und hier durch nachträgliche Verschmelzung mit dem einen Furchungskern die pathologische Entwicklung der einen Seite des Embryos verursacht hat. Es wäre damit eine Parallele zu Vorgängen am Seeigelei gegeben, wie ich sie in meiner Arbeit (1912) beschrieben und abgebildet habe, wo die Verschmelzung des Radiumkernes mit einem der ersten haploiden Furchungskerne zur Entstehung von Blastulae führt, die zur Hälfte gesunde

haploide, zur anderen Hälfte radiumkranke Kerne besitzen. Ebenso lassen sich geringere partielle Erkrankungen der Larven, wie z. B. die Kerndegeneration in bestimmten Gegenden des Rückenmarks oder der Retina, auf eine spätere Schädigung einzelner Furchungskerne durch das bei dem Furchungsprozess nur auf eine geringe Anzahl von Blastomeren verteilte Radiumchromatin zurückführen: hat doch Kupelwieser noch im 32-Zellenstadium verklumptes, mit normalen haploiden Furchungskernen in Beziehung tretendes, stammfremdes Spermachromatin nachweisen können.

b) Die durch die haploide Beschaffenheit des Kernapparates verminderte Wachstumsenergie der Embryonalzellen. Die Ausbildung hemikaryotischer Zwerglarven.

Fragen wir uns aber, ob mit der Annahme einer nicht völligen Elimination des Radiumchromatins von der Entwicklung alle abnormen Befunde an unseren parthenogenetischen Larven erklärt werden können, so glaube ich dies verneinen zu müssen. Die stets vorhandene geringe Gesamtgrösse der Larven und die Kleinheit ihrer sämtlichen Organe, auf die ich schon im experimentellen Teil ganz besonders an der Hand von mehreren Abbildungen hinwies, und die sicher, wie z. B. allein die Kürze des Ruderschwanzes, für die Lebensfähigkeit der Larven von grosser Bedeutung ist, können nicht auf eine Erkrankung infolge einer Schädigung durch das Radiumchromatin zurückgeführt werden. Denn bei diesen Erscheinungen handelt es sich nicht um eine partielle, einzelne Organe betreffende, sondern um eine den ganzen Larvenkörper in Mitleidenschaft ziehende Veränderung. Der Grund für diese abnormen Befunde ist, wie ich im folgenden nachweisen werde, allein in der haploiden Beschaffenheit des Kernapparates zu suchen.

Auf den ersten Blick dürfte man wohl geneigt sein, die bei den parthenogenetischen Amphibienlarven festgestellte Kleinheit sämtlicher Organe in direkte Verbindung mit der haploiden Beschaffenheit ihrer Kerne und der dadurch nach dem Satz von der Kernplasmarelation bedingten Verkleinerung der Zellgrösse zu setzen. Man könnte etwa folgendermassen argumentieren: Da die einzelnen Zellen, aus denen sich die Organe aufbauen, bei den parthenogenetischen Larven nur halb so gross sind als bei

den normalen Embryonen, so müssen auch die Organe der parthenogenetischen Tiere nur die halbe Normalgrösse besitzen. Dieser Schluss ist nun aber, wie leicht gezeigt werden kann, irrig; denn die dabei stillschweigend gemachte Voraussetzung ist unbegründet, dass die Zellenzahl bei beiden Larvenkategorien dieselbe ist.

Wir haben für sämtliche Zellen der parthenogenetischen Tiere ein der Norm entsprechendes Verhältnis von Kern zu Protoplasma festgestellt; entsprechend den haploiden Kernen ist auch die Zellgrösse ungefähr auf die Hälfte der Norm reduziert. Da nun am Anfang der Entwicklung im Ei das Ausgangsmaterial am Plasma für einen normalen diploiden Furchungskern berechnet ist, so muss, um dies Missverhältnis von haploidem Kern zu unreduziertem Eiplasma zu beseitigen, im Laufe der Entwicklung eine Regulation zur Norm stattgefunden haben. Boveri hat am Seeigelei nachgewiesen, wie dies geschieht.

Bei dem Vergleich diplo-, amphi- und hemikaryotischer Seeigellarven, die mit gleich grossem Protoplasmamaterial ihre Entwicklung begonnen hatten, stellte Boveri fest, dass auf entsprechenden Larvenstadien „die Zahl der Larvenzellen der in ihnen enthaltenen Chromatinmenge (Chromosomenzahl) umgekehrt proportional ist", d. h. mit anderen Worten, auf gleichem Entwicklungsstadium, wie z. B. beim Beginn der Gastrulation, müssen die hemikaryotischen Eier sich einmal mehr geteilt haben als die amphikaryotischen. Der Grund hierfür ist offenbar darin zu suchen, dass, wie Richard Hertwig sagt, „für den Eintritt bestimmter entwicklungsgeschichtlicher Vorgänge, wie z. B. den der Gastrulation, ein bestimmter Zustand der Kernplasmarelation massgebend ist".

Diesen Satz Boveris konnte ich auch für frühe Entwicklungsstadien meiner parthenogenetischen Krötenlarven als gültig nachweisen. Auf Querschnitten durch eine parthenogenetische und eine Kontrollgastrula liess sich unschwer erkennen, dass die parthenogenetische Gastrula nur halb so grosse, dafür aber ungefähr doppelt so viele Zellen besass als die normale Gastrula. So ergaben die Zählungen in immer je zwei gleich grossen Bezirken der Urmundlippen bei der parthenogenetischen Gastrula 29 bezw. 30 Kerne, bei der Kontrollgastrula 53 bezw. 56 Kerne, also ungefähr das Verhältnis 1 : 2.

Wenn nun aber trotz dieser Verdoppelung der Zellzahl auf dem Gastrulastadium die parthenogenetischen Larven an Grösse

stets beträchtlich hinter den Kontrollarven zurückbleiben und, was besonders wichtig ist, auch auf vergleichbaren Entwicklungsstadien, wie z. B. Verschwinden der äusseren Kiemen, Sichtbarwerden der hinteren Extremitätenanlagen, kleiner als die Norm sind, so kann der Grund hierfür allein in einer verringerten Wachstumsenergie ihrer Zellen liegen, wodurch die ursprünglich bei der Gastrulation verdoppelte Zellenzahl wieder herabgesetzt und so der Normalzahl wieder genähert wird. Diese Annahme wird nun auch durch die Tatsache bestätigt, dass bei den parthenogenetischen Tieren die Zahl der Mitosen, wie man auf Durchschnitten, sowie auf Totalpräparaten von Schwänzen leicht feststellen kann, fast stets erheblich geringer ist als bei den Kontrollarven.

Dieses verringerte Wachstum der parthenogenetischen Larven lässt sich nun wohl zu einem Teil auf die bei ihnen häufig vorhandenen pathologischen Störungen, wie abnorme Kürze des Schwanzes und durch sie bedingte Behinderung der Nahrungsaufnahme zurückführen. Aber diese Erklärung ist allein keine ausreichende, denn auch schon bei Entwicklungsstadien, für die eine Nahrungsaufnahme von aussen noch nicht in Betracht kommt, wo die Larve allein auf das Dottermaterial angewiesen ist, kann man deutlich ein Kleinerbleiben der parthenogenetischen Tiere, die sonst durchaus wohlgebildet sind, bemerken. Für dieses verringerte Wachstum der parthenogenetischen Larven müssen wir die haploide Beschaffenheit des Kernapparates und die damit verbundene reduzierte Zellgrösse verantwortlich machen.

Dieser Schluss, zu dem ich auf Grund meiner Beobachtungen an den parthenogenetischen haploidkernigen Larven gekommen bin, erfährt eine weitere Bekräftigung durch die interessanten Befunde von Brachet und Herlant an polyspermen Froscheiern. Herlant stellte an Froschembryonen, die sich aus dispermen Eiern entwickelt hatten, fest, dass bei ihnen die beiden Körperhälften asymmetrisch ausgebildet sind. Die eine Hälfte des Embryos besitzt normal grosse Organe mit diploiden Kernen, die andere Hälfte dagegen abnorm kleine Organe mit haploiden, allein von einem Spermakern abstammenden Kernen. Vielleicht noch klarer wie bei unseren parthenogenetischen Larven tritt hier die Tatsache hervor, dass der Besitz haploider Kerne die Ausbildung abnorm kleiner Organe zur notwendigen Folge hat. Denn hier können natürlich mangelhafte Ernährung oder sonstige patho-

logische Störungen für die Kleinheit der Organe auf der einen Seite des Embryos nicht verantwortlich gemacht werden.

Bis jetzt haben wir allein die Tatsache betrachtet, dass die parthenogenetischen Larven in unseren Versuchen stets kleiner als die normalen, gleichaltrigen Kontrollarven sind, und den Grund dafür in einer durch die haploide Beschaffenheit des Kernmaterials bedingten verminderten Vermehrungsenergie der Larvenzellen gefunden. Wir haben dagegen bisher die Frage noch nicht erörtert, ob die Kleinheit dieser parthenogenetischen Larven nur durch ein Zurückbleiben in der Entwicklung und Differenzierung der Organe oder durch wirklichen Zwergenwuchs bestimmt ist. Der Unterschied ist klar. Denn von Zwerglarven, bedingt durch Zwergenwuchs, können wir streng genommen nur dann reden, wenn auf gleichen, fest bestimmten Entwicklungsstadien sämtliche Organe bei gleichem Differenzierungsgrad abnorm klein sind.

Es ist nun, bei dem Mangel genau vergleichbarer Entwicklungsstadien, nicht leicht, ein sicheres Urteil in dieser Hinsicht zu fällen. Vergleichen wir gleichaltrige parthenogenetische und normale Larven miteinander, so können wir fast stets einen geringeren Differenzierungsgrad der Mehrzahl, wenn nicht sämtlicher Organe bei den parthenogenetischen Larven konstatieren, so besonders deutlich am Gehörorgan und an der Leber. Immerhin sind diese Differenzierungs- und Entwicklungsunterschiede, wie ich glaube, viel zu geringfügig, um auf sie allein die beträchtlichen Grössendifferenzen sämtlicher Organe der normalen und parthenogenetischen Larven beziehen zu können.

Zu dem gleichen Ergebnis kommen wir, wenn wir nicht zwei gleichaltrige, sondern zwei gleich lange Larven miteinander vergleichen. Die beiden Larven, die in den Fig. 5 und 8 auf Taf. VI abgebildet sind, haben ungefähr dieselbe Länge. Die eine ist eine 15 Tage alte parthenogenetische, die andere eine 7 Tage alte Kontrollarve. Entsprechend ihrem doppelten Alter ist nun die parthenogenetische Larve, trotz gleicher Körperlänge, in jeder Beziehung weiter entwickelt als die Kontrollarve, wie wir schon allein an den Kiemen, sowie an der ganzen Form des Larvenkörpers erkennen. Hier sehen wir ganz deutlich, dass es sich bei dem Kleinerbleiben der parthenogenetischen Larve nicht um eine einfache Wachstumsverzögerung, sondern um wirklichen Zwergenwuchs in dem von uns vorhin definierten Sinne handelt.

Ein Gegenstück zu dieser Bildung von Zwerglarven bei haploider Chromosomenzahl und damit zugleich eine weitere Stütze für die Richtigkeit meiner soeben entwickelten Anschauungen erblicke ich in den interessanten Befunden bei Oenothera, wo die Chromosomenverdoppelung zur Ausbildung einer grösseren und kräftigeren Mutante, der Oenothera gigas, führt, sowie in den soeben veröffentlichen Befunden von Artom über die Grössenverhältnisse von Artemia salina univalens und bivalens.

Es gelten hier dieselben Erwägungen wie bei den Frosch- und Seeigellarven mit abnormen Chromosomenzahlen. Es wäre denkbar, dass Oenothera gigas infolge der tetraploiden Beschaffenheit ihres Kernapparates zwar grössere Zellen als Oenothera Lamarkiana nach dem Satze von der Kernplasmarelation, dafür aber nur die Hälfte der normalen Zellenzahl besitzt, genau so wie die tetraploiden Seeigellarven in Boveris Versuchen zwar doppelt so grosse, dafür aber nur halb so viele Zellen besassen als normale diploidkernige Larven auf gleichem Entwicklungsstadium. Tatsächlich besitzt nun aber Oenothera gigas nicht die halbe, sondern, wie Gates festgestellt hat, ungefähr dieselbe Zellenzahl als Oenothera Lamarkiana, und daraus zusammen mit der doppelten Grösse ihrer Zellen erklärt sich eben ihr kräftigerer Wuchs, dem sie ihren Namen verdankt. Wir finden also bei Oenothera gigas mit der vermehrten Chromosomenzahl eine erhöhte Wachstumsenergie verbunden, die sich schon bei dem Keimen der Samen und später an den jungen Keimpflanzen deutlich bemerkbar macht. Erwähnenswert ist auch, dass eine triploide Mutante, die Oenothera semigigas, in ihrer Statur eine Mittelstellung zwischen Oenothera Lamarkiana und Oenothera gigas einnimmt. Es zeigen uns diese Beispiele, dass die Zahl der Chromosomen bei Oenothera einen deutlichen Einfluss auf die Form des Gesamtorganismus besitzt.

Ebenso ergeben die Untersuchungen von Artom, dass Artemia salina bivalens nicht nur doppelt soviele Chromosomen als Artemia salina univalens besitzt, sondern dass mit dem verdoppelten Kern- und Zellvolumen auch die gesamte Körpergrösse zugenommen hat. Die Zahl der Zellen ist in den beiden Species von Artemia salina bei gleichem Entwicklungsstadium ungefähr dieselbe.

Das Resultat unserer Überlegungen können wir also dahin zusammenfassen: Bei den parthenogenetischen Amphibienlarven

mit haploiden Kernen findet die Herstellung der normalen Kernplasmarelation dadurch statt, dass während der Eifurchung eine Zellteilung mehr als bei den Normallarven stattfindet. Der parthenogenetische Embryo beginnt also sein Wachstum mit einer gegen die Norm aufs Doppelte erhöhten Anzahl halb so grosser Zellen. Die Vermehrungsenergie dieser kleinen Zellen mit haploiden Kernen ist jedoch gegen die Norm verringert, so dass parthenogenetische, haploidkernige Zwerglarven entstehen. Ein Gegenstück zu dieser Bildung von Zwerglarven bei vermindertem Chromosomenbestand wurde in der Riesenbildung bei verdoppelter Kern- und Zellgrösse bei Oenothera gigas und Artemia salina bivalens gefunden.

Man könnte nach diesen Darlegungen vielleicht erwarten, dass die Aufzucht lebensfähiger parthenogenetischer Zwerglarven in unseren Experimenten möglich sein sollte, denn der Zwergenwuchs würde ja, vorausgesetzt, dass die Korrelation der einzelnen Organe gewahrt bliebe, das Leben nicht ohne weiteres unmöglich machen. In unseren Versuchen an Frosch und Kröte ist es uns dagegen nicht gelungen, die parthenogenetischen Larven länger als 3—5 Wochen am Leben zu erhalten. Sämtliche Embryonen wiesen deutliche Krankheitserscheinungen, wie vor allem Bauchwassersucht und mangelhafte Bewegungsfähigkeit, auf.

Nach meiner Meinung ergeben sich nun diese soeben genannten pathologischen Störungen mit Notwendigkeit aus dem Missverhältnis, das zwischen der verringerten Wachtumsenergie der Embryonalzellen infolge ihrer reduzierten Kern- und Plasmamenge und dem im Ei vorhandenen Dottermaterial besteht und eine harmonische Entwicklung unmöglich macht. Besonders klar tritt dies im folgenden Falle hervor. Infolge des verminderten Wachstums bleibt schon in frühen Entwicklungsstadien der Schwanz bei den parthenogenetischen Larven kürzer als bei den normalen Embryonen. Da nun die Körpermasse des jungen Embryos infolge der gleichen Dottermasse in beiden Fällen annähernd dieselbe ist, so kann es uns nicht wundernehmen, wenn die ausgeschlüpfte parthenogenetische Larve infolge der relativen Insuffizienz ihres Schwanzes zu normalen Schwimmbewegungen nicht fähig ist, wie wir dies stets in unseren Experimenten beobachtet haben. Erst einige Tage später als bei den Normallarven hat der Schwanz eine solche Länge erreicht, dass eine,

wenn auch noch unbeholfene, Fortbewegung der Larve im Wasser möglich wird. Hier übersehen wir klar die Folgen, die sich aus dem Missverhältnis zwischen Dottermasse und verminderter Wachstumsenergie ergeben, und die für das Leben des Embryos sicher von verderblichem Einfluss sind. Vielleicht ist auch eine besonders bei den Froschlarven deutlich ausgesprochene Verzögerung des Urmundschlusses und ebenfalls die Bauchwassersucht auf dieselben soeben genannten Ursachen zurückzuführen. Überhaupt erscheint mir eine Entwicklung lebensfähiger parthenogenetischer Zwerglarven aus ganzen Eiern infolge des Missverhältnisses an Dottermaterial wenig wahrscheinlich.

Weitere Untersuchungen werden die Richtigkeit dieser Anschauung zu beweisen haben. So beabsichtige ich nächstes Jahr Experimente an Triton in dieser Richtung anzustellen. Auch das Tritonei kann durch radiumbestrahlten artgleichen oder artfremden Samen zur parthenogenetischen Entwicklung mit haploidem Kern angeregt werden, wie O. Hertwig nachgewiesen hat. Diese Embryonen sind ebenfalls nicht lebensfähig, sie stimmen in jeder Beziehung mit meinen parthenogenetischen Krötenlarven überein.

Wie Herlitzka nun zuerst gezeigt hat, ist es durch Durchschnürung der Eier auf dem Zweizellenstadium mit einem feinen Haar möglich, aus einem Ei zwei entsprechend kleinere Embryonen zu züchten. Bei Anwendung dieser Durchschnürungsmethode auf zweigeteilte parthenogenetische Eier wird es sich zeigen, ob die haploidkernigen Embryonen, die sich aus der Hälfte des Eimaterials entwickeln, normaler gebaut und lebensfähiger sind als solche aus dem ganzen Eimaterial. Ist dies der Fall, so wäre damit meine Hypothese von dem schädlichen Einfluss der zu reichlichen Dottermasse auf die Entwicklung parthenogenetischer Zwerglarven bewiesen.

6. Die Entwicklung durch Radiumbestrahlung entkernter Kröteneier nach ihrer Befruchtung mit artfremdem Froschsamen. Vergleich der Versuchsergebnisse mit ähnlichen Experimenten Godlewskis.

Nachdem in den vorangehenden Teilen dieser Arbeit der sichere Nachweis erbracht werden konnte, dass durch intensiv mit Radium bestrahlte Samenfäden Frosch- und Kröteneier zu einer parthenogenetischen Entwicklung angeregt werden können, wollen wir nunmehr auf die Versuche eingehen, die im experimentellen Teil der Arbeit an dritter Stelle beschrieben sind.

In meiner früheren Arbeit (1911) habe ich den Nachweis geführt, dass Froscheier, die vor der Befruchtung genügend lange mit Radium bestrahlt worden sind (C-Serie), sich nach ihrer Befruchtung mit normalem artgleichem Samen ebensogut und ebenso lange entwickeln als die Eier der B-Serie, die selbst unbestrahlt mit radiumbestrahltem Sperma besamt wurden. Ich zog damals aus dem Vergleich der beiden Serien den Schluss, dass in der C-Serie die Froscheier durch die Radiumbestrahlung „entkernt" worden sind, und dass die Entwicklung dieser entkernten Eier nach der Befruchtung mit artgleichem normalem Samen als eine androgenetische oder merogone mit männlich haploidem Kernapparat (arrhenokaryotische Entwicklung nach Boveri) aufzufassen ist. Zum Beweise der Richtigkeit meiner Anschauung reproduziere ich die Leberkerne (Textfig. 5) einer 14 Tage alten androgenetischen Rana fusca-Larve, die aus einem Ei gezüchtet wurde, das vor seiner Befruchtung mit normalem artgleichem Samen 15 Minuten lang mit einem Mesothoriumpräparat von der Stärke 30 mg reinem Radiumbromid in 2 mm Abstand bestrahlt wurde, sowie zum Vergleich die Leberkerne einer gleichaltrigen Kontrollarve (Textfig. 6). Man sieht bei

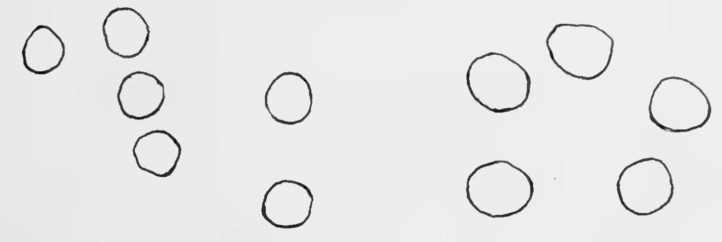


Fig. 5.
Leberkerne einer androgenetischen, merogonen Froschlarve.
Alter: 14 Tage. Vergr. 1000fach.

Fig. 6.
Leberkerne einer gleichaltrigen Kontrollarve.
Vergr. 1000 fach.

gleicher 1000facher Vergrösserung sofort, dass die Kerne der androgenetischen Larve erheblich kleiner als die der Kontrollarve sind. Die Messungen ergeben, dass sich die Kernvolumina der beiden Larven wie 0,236:0,47, also genau wie 1:2 verhalten. Zu demselben Ergebnis führt ein Vergleich der Ganglienzellen des Rückenmarks; auch hier verhalten sich die Volumina wie 1:2. Die Kerne der merogonen Larve des Radiumversuches sind also sicher haploid.

Es lag nun nahe, diese Methode der Entkernung von Amphibieneiern durch Radiumbestrahlung mit der Kreuzbefruchtung zu kombinieren. Ein derartiges Experiment ist von mir im experimentellen Teil an dritter Stelle beschrieben worden, und es bleibt uns nur übrig, hier die Schlussfolgerung aus den Ergebnissen dieses Versuches zu ziehen. Wir haben im experimentellen Teil auf S. 97 festgestellt, dass Kröteneier, die durch genügend intensive Mesothoriumbestrahlung entkernt und dann mit Sperma von Rana fusca besamt wurden, sich zwar zu einem gewissen Prozentsatz normal furchen und das Keimblasenstadium erreichen, dann aber stets, ohne zu gastrulieren, absterben. Die väterliche artfremde Kernsubstanz ist also im Gegensatz zu der artgleichen nicht imstande, den Gastrulationsprozess einzuleiten.

Dieses Resultat steht nun mit Beobachtungen an kernlosen Seeigeleifragmenten, die mit artfremdem Samen befruchtet wurden, in bester Übereinstimmung. Godlewski besamte kernlose Eifragmente von Sphärechinus mit Antedonsperma; alle Keime starben spätestens auf dem Gastrulastadium vor der Skelettbildung ab. In Godlewskis und in meinen Experimenten vermag sich das kernlose Ei, das mit einem artfremden Samenfaden befruchtet wurde, nur soweit zu entwickeln, als lediglich, wie Boveri sagt, „generelle Chromosomeneigenschaften" erforderlich sind. Als kritische Periode müssen wir die Zeit der Gastrulation ansehen, ein Prozess, der überhaupt einen gesunden Kernapparat und ein richtiges, harmonisches Wechselverhältnis von Kern und Plasma zu seinem normalen Ablauf erfordert. Sollen sich daher entkernte Eier nach der Besamung über das Blastulastadium hinaus entwickeln, so ist es nötig, sie mit Sperma der gleichen oder einer nahe verwandten Art zu befruchten.

Bei Wahl geeigneter Objekte wird es sicher möglich sein, durch Entkernung der Eier mittels Radiumbestrahlung und durch nachfolgende Befruchtung mit Sperma einer nahe verwandten Art wichtige Beiträge für die Frage nach der Bedeutung von Kern und Plasma für die Vererbung zu gewinnen. Vorbedingung für das Gelingen eines derartigen Experimentes ist natürlich, dass die beiden zu dem Versuch benutzten Spezies schon auf frühen Larvenstadien charakteristische Unterschiede aufweisen. Unter den Amphibien, die durch Kreuzungsexperimente hierauf geprüft worden sind, ist mir eine geeignete Kombination leider

nicht bekannt, dagegen werden sich bei Fischen wohl brauchbare Verbindungen finden lassen.

Überhaupt verspricht die Kombination von Kreuzungs- und Radiumexperiment noch eine reiche Ausbeute an interessanten Ergebnissen und ich will meine Arbeit damit beschliessen, dass ich kurz noch einmal auf den Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der Bastardierungs- und Radiumversuche hinweise.

7. Das Gesetz der Kurvenbildung bei Radium- und bei Kreuzungsexperimenten.

Schon in meiner Seeigelarbeit (1912) habe ich auf die grosse Ähnlichkeit und Übereinstimmung hingewiesen, die zwischen den Resultaten dieser beiden auf den ersten Blick so verschiedenartigen Forschungsmethoden herrscht. Wenn man nämlich die Lebensdauer der einzelnen Produkte der Bastardierung betrachtet, nachdem man sie, je nach ihrer Entstehung aus näher verwandten oder systematisch weiter entfernten Varietäten und Spezies, in einer fortlaufenden Reihe geordnet hat, so erhält man eine ähnliche Kurvenbildung als bei kurzer oder langer Radiumbestrahlung je einer der die Zygote bildenden Keimzellen. Bei den Bastardierungsexperimenten bilden den Tiefpunkt der Kurve die Fälle, wo die Entwicklung auf dem Blastulastadium stehen bleibt, auf dem aufsteigenden Schenkel der Kurve finden die Experimente Kupelwiesers der stammfremden Bastardierung mit der Entwicklung bis zum Pluteus Platz. Ferner sind hier unter anderem noch die allerdings nicht cytologisch bestätigten Fälle von der durch artfremden Samen induzierten parthenogenetischen Entwicklung bei Schnecken nach Lang, sowie höchst wahrscheinlich auch einige Amphibienkreuzungen einzureihen. Bei den Radiumexperimenten wird der Tiefpunkt der Kurve dann erreicht, wenn das Radiumchromatin noch gerade vermehrungsfähig ist, der aufsteigende Teil der Kurve kommt dadurch zustande, dass das Radiumchromatin durch intensive Bestrahlung so schwer geschädigt ist, dass es sich nur noch langsam oder gar nicht mehr vermehrt.

Die Erklärung für diese merkwürdige Übereinstimmung der Ergebnisse zweier so verschiedener experimenteller Untersuchungen ist in der grösseren oder geringeren Verschiedenheit der in dem Zeugungsprodukte vereinigten Idioplasmen, die einmal durch die Bastardierung, das andere Mal durch die Radiumbestrahlung ver-

anlasst ist, zu erblicken. O. Hertwig hat hierfür den treffenden Namen disharmonische Idioplasmaverbindungen eingeführt.

Wir besitzen also im Radium (und auch in anderen chemischen Substanzen, z. B. dem Methylenblau, wie O. Hertwig gezeigt hat), wenn wir es auf eine der beiden Keimzellen vor ihrer Vereinigung einwirken lassen, ein Mittel, disharmonische Idioplasmaverbindungen herzustellen, bzw. bestehende Disharmonien zu verstärken; d. h. also, wir können auf diesem Wege die Entwicklungsdauer der Zygote entsprechend der Kurve nach rechts zu verschieben. Gehen wir daher von einer disharmonischen Idioplasmaverbindung aus, deren Lebensdauer dem Tiefpunkt der Kurve entspricht, wie wir sie in unseren Experimenten in der Kombination Bufo vulgaris ♀ × Rana fusca ♂ vor uns haben, so muss bei Verstärkung der Disharmonie durch die Radiumbestrahlung des Samenkerns die Lebensdauer entsprechend dem aufsteigenden Teil der Kurve anwachsen, ein Ergebnis, das tatsächlich auch in unseren Versuchen eintrat.

Der Satz, dass die Radiumbestrahlung des Samens vor seiner Verwendung zum Kreuzungsexperiment die Lebensdauer des Bastardproduktes entsprechend der Kurve nach rechts verschiebt, gibt uns nun ein gutes Hilfsmittel in die Hand, um die Frage zu entscheiden, auf welchem Teil der Kurve das Ergebnis eines Bastardierungsexperimentes einzureihen ist. Ein Beispiel wird dies klar machen. Born und Pflüger geben an, dass sie bei der Bastardierung Rana esculenta ♀ × Bufo ♂ eine Reihe von wassersüchtigen, kranken Embryonen erhalten haben, die 7 bis 10 Tage nach der Befruchtung starben. Wie sind diese Embryonen entstanden? Haben sie gemischte Bastardkerne, und sind sie infolge der disharmonischen Idioplasmaverbindung erkrankt, oder sind es etwa parthenogenetische Larven mit haploiden Kernen, bei denen nur die Elimination des väterlichen Chromatins nicht ganz ohne Störung erfolgt ist, wie bei den Versuchen von Baltzer und Kupelwieser. Dann könnte es uns ja auch nicht wundern, dass, wie Born festgestellt hat, keine väterlichen Charaktere bei ihnen zum Vorschein kommen. Hier kann nun ein Radiumversuch rascher als die recht schwierige cytologische Untersuchung die Entscheidung herbeiführen. Handelt es sich um eine amphikaryotische Entwicklung, so muss eine relativ schwache Radiumbestrahlung des Samenfadens die Entwicklungsdauer entsprechend

dem absteigenden Kurvenast nach rechts verschieben, also das Entwicklungsresultat verschlechtern. Umgekehrt, wenn eine kurze Radiumbestrahlung des Samens die Entwicklungsdauer nicht beeinflusst oder sogar bei nicht vollständiger Parthenogenese verlängert, so handelt es sich mit Sicherheit um eine parthenogenetische hemikaryotische Entwicklung, das Resultat der Kreuzung wäre also auf dem aufsteigenden Teil der Kurve einzureihen.

Es versteht sich von selbst, dass auch auf botanischem Gebiet durch Kombination von Bastardierung und Bestrahlung des Pollens eine Reihe von Fragen ihrer Lösung näher gebracht werden können. Ich denke z. B. an die Bastardierungsexperimente von Lidforss mit Rubus, der feststellte, dass die Nachkommenschaft eines Kreuzungsversuches aus einem Gemisch von Bastarden und rein mütterlichen Individuen bestand, von denen die letzteren höchst wahrscheinlich auf parthenogenetischem Wege entstanden waren. Durch nicht zu intensive Bestrahlung des Pollens mit Radium kann man es nun, wie ich bei Lychnis nachgewiesen habe, erreichen, dass zwar Samenkörner noch gebildet werden, dass diese aber stark missbildet und keimungsunfähig sind. Liesse es sich daher bei Rubuskreuzungen zeigen, dass nach Bestrahlung des Pollens die eine Hälfte der Samenkörner verkümmert und keimungsunfähig, die andere Hälfte dagegen normal und entwicklungsfähig wäre und rein mütterliche Nachkommen ergäbe, so wäre dies ein weiterer Beweis für die parthenogenetische Entwicklung dieser äusserlich nur rein mütterliche Charaktere aufweisenden Pflanzen.

Diese beiden Beispiele mögen genügen, um zu zeigen, in welcher Weise das Radiumexperiment fruchtbringend in den Dienst entwicklungsphysiologischer Forschung gestellt werden kann.

Literaturverzeichnis.

Artom, C.: Le basi citologiche di una nuova sistematica del genere Artemia. Arch. f. Zellforsch., Bd. IX, 1912.

Baltzer, F.: Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden. Arch. f. Zellforsch., Bd. V, 1910.

Bataillon, E.: Le problème de la fécondation circonscrit par l'imprégnation sans amphimixie et la parthénogénèse traumatique. Arch. de Zool. Exp., Tome 6, Nr. 2, 1910.

Baur, E.: Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. Berlin, Bornträger, 1911.

Born, G.: Beiträge zur Bastardierung zwischen den einheimischen Anurenarten. Pflügers Arch., Bd. 32, 1883.

Derselbe: Biologische Untersuchungen. II. Weitere Beiträge zur Bastardierung zwischen den einheimischen Anuren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 27, 1886.

Boveri, Th.: Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena 1904.

Derselbe: Zellstudien. Heft IV. Jena 1900.

Derselbe: Zellstudien. Heft V. Jena 1905.

Derselbe: Zellstudien. Heft VI. Jena 1907.

Brachet, A.: La parthénogenèse expérimentale dans l'oeuf de Rana fusca. Arch. de biol., Tome 26, 1911.

Derselbe: La polyspermie expérimentale dans l'oeuf de Rana fusca. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.

Buchner: Die Reifung des Seesterneies bei experimenteller Parthenogenese. Arch. f. Zellforsch., Bd. VI, 1911.

Chambers, R.: Einfluss der Eigrösse und der Temperatur auf das Wachstum und die Grösse des Frosches und dessen Zellen. Arch. f. mikr. Anatomie, Bd. 72, 1908.

Gates, R.: The stature and chromosomes of Oenothera gigas de Vries. Arch. f. Zellforsch., Bd. III, 1909.

Godlewski, E. jun.: Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden- und Crinoidenfamilie. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 20, 1906.

Herbst, C.: Vererbungsstudien. IV. und VI. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 22, 1906 und Bd. 27, 1909.

Herlant: Recherches sur les oeufs di-et-trispermique de grenouille. Arch. de Biol., Tome 26, 1911.

Hertwig, G.: Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.

Derselbe: Das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.

Hertwig, O.: Experimentelle Studien am tierischen Ei. Jenaische Zeitschrift, Bd. 17, 1890.

Hertwig, O.: Allgemeine Biologie. IV. Auflage. Jena 1912.

Derselbe: Die Radiumstrahlung in ihrer Wirkung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 15. Juli 1909. Sitz.-Ber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss. XI, 1910.

Derselbe: Neue Untersuchungen über die Wirkung der Radiumstrahlung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 28. Juli 1910. Sitz.-Ber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss. XXXIX, 1910.

Derselbe: Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Bonn, Fr. Cohen, 1911.

Derselbe: Mesothoriumversuche an tierischen Keimzellen, ein experimenteller Beweis für die Idioplasmanatur der Kernsubstanzen. Mitteilung vom 6. Juli 1911. Sitz.-Ber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss. XL, 1911.

Derselbe: Veränderung der idioplasmatischen Beschaffenheit der Samenfäden durch physikalische und chemische Eingriffe. Sitz.-Ber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss. 31, 1912.

Derselbe: Disharmonische Idioplasmaverbindungen und ihre Folgen. Scientia. Bd. 12, Jahrg. 6, 1912.

Hertwig, R.: Über neue Probleme der Zellenlehre. Arch. f. Zellforsch., Bd. 1, 1908.

Hertwig, O. und R.: Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluss äusserer Agentien. Jena 1887.

Hertwig, Paula: Durch Radiumbestrahlung hervorgerufene Veränderungen in den Kernteilungsfiguren der Eier von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.

Kupelwieser: Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 27, 1909.

Derselbe: Weitere Untersuchungen über Entwicklungserregung durch stammfremde Spermien. Arch. f. Zellforsch., Bd. VIII, 1912.

Lang, A.: Fortgesetzte Vererbungsstudien. III. Falsche Bastarde von Trachea-Arten. Durch artfremdes Sperma induzierte Parthenogenese? Zeitschr. f. ind. Abst. u. Vererbungsl., Bd. V, 1911.

Lillie, F. R.: Studies of fertilization in Nereis. Journal of experim. Zool., Bd. 12, 1912.

Marchal, Él. und Ém.: Aposporie et sexualité chez les mousses. III. Bulletin d. l'Acad. royale de Belgique, 1911.

Pflüger, E.: Die Bastardzeugung bei den Batrachiern. Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. XXIX, 1882.

Tischler: Untersuchungen über die Entwicklung des Bananenpollens. I. Arch. f. Zellforsch., Bd. V, 1910.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VI und VII.

Die Herstellung der Abbildungen erfolgte so, dass von den Embryonen und Durchschnitten mikrophotographische Aufnahmen angefertigt und auf den Kopien derselben noch die feineren Details mit Tusche und Bleistift eingezeichnet wurden.

Tafel VI.

Die Fig. 1—4 sind 12 mal, alle übrigen Figuren 8 mal vergrössert.

Die in den Fig. 1—3, 6, 7, 8, 10, 11, 13, 15, 16 abgebildeten Embryonen haben sich aus Kröteneiern entwickelt, die mit Sperma von Rana fusca besamt worden waren. Der Froschsamen war vor Verwendung zur Befruchtung 4½ Stunden zwischen zwei Mesothoriumkapseln von der Stärke 55 mg und 10 mg reinem Radiumbromid in 2 mm Abstand bestrahlt worden.

Die Embryonen der Fig. 4, 5, 9, 12, 14, 17 sind normale Krötenlarven (Bufo vulgaris).

Die in den Fig. 19—22 abgebildeten Embryonen stammen von Eiern von Rana esculenta ab, die mit Sperma von Rana fusca besamt worden waren. Die Samenflüssigkeit war vorher 2 Stunden lang zwischen den beiden Mesothoriumkapseln (55 mg und 10 mg reines Radiumbromid) in 2 mm Abstand bestrahlt worden.

Auf Fig. 18 und 23 sind zwei normale Rana esculenta-Larven als Kontrolle photographiert.

Fig. 1—3. Zwei Spinae bifidae und ein stark pathologischer Embryo aus dem Radiumkrötenversuche. Alter: 4 Tage.

Fig. 4. 4 Tage alte Krötenlarve.

Fig. 5. 7 Tage alte Krötenlarve.

Fig. 6 und 7. Zwei 7 Tage alte Embryonen aus dem Radiumkrötenversuch mit starker Bauchwassersucht, zottigen Exkreszenzen der Bauchhaut und verkümmertem Schwanz.

Fig. 8. Parthenogenetische 15 Tage alte Larve aus dem Radiumkrötenversuch.

Fig. 9. 15 Tage alte normale Krötenlarve.

Fig. 10 und 11. Zwei parthenogenetische 16 Tage alte Krötenlarven.

Fig. 12. 16 Tage alte normale Krötenlarve.

Fig. 13. 28 Tage alte parthenogenetische Krötenlarve.

Fig. 14. 28 Tage alte normale Krötenlarve.

Fig. 15. 32 Tage alte parthenogenetische Krötenlarve.

Fig. 16. 37 Tage alte parthenogenetische Krötenlarve.

Fig. 17. 37 Tage alte normale Krötenlarve.

Fig. 18. 11 Tage alte normale Larve von Rana esculenta.

Fig. 19—21. Drei parthenogenetische Larven von Rana esculenta aus dem Radiumversuch, 11 Tage alt.

Fig. 22. 13 Tage alte parthenogenetische Larve von Rana esculenta.

Fig. 23. 13 Tage alte normale Larve von Rana esculenta.

Tafel VII.

Fig. 24. Schnitt durch die in Fig. 1 abgebildete Spina bifida. ch = Chorda; mp = Medullarplatte; ms = Mesodermsegment; ul = Urmundlippe.

Fig. 25. Querschnitt durch den Embryo Fig. 6 in der Bauchgegend. bl = Blastulahöhle; d = Darm; do = Nester von Dotterzellen in den zottigen Exkreszenzen der Bauchepidermis.

Fig. 26. Querschnitt durch den in der Fig. 13 abgebildeten parthenogenetischen Embryo in der Augengegend.

Fig. 27. Querschnitt durch die Augengegend des Kontrollembryos (Fig. 14). Dieselbe Vergrösserung wie in Fig. 26.

Fig. 28. Querschnitt durch die Ohrgegend des parthenogenetischen Embryos (Fig. 15).

Fig. 29. Querschnitt durch die Ohrgegend einer gleichaltrigen Kontrollarve. Vergrösserung wie in Fig. 28.

Fig. 30. Kerne der Medulla des in Fig. 14 abgebildeten Kontrollembryos. 1000fache Vergrösserung.

Fig. 31. Kerne der Medulla der in Fig. 13 abgebildeten parthenogenetischen Larve. 1000fache Vergrösssserung.

Fig. 32. Querschnitt durch die Ohrgegend der in Fig. 14 abgebildeten Normallarve.

Fig. 33. Querschnitt durch die Ohrgegend der parthenogenetischen Krötenlarve (Fig. 13). Dieselbe Vergrösserung wie in Fig. 33.

Fig. 34. Leberzellkerne einer 29 Tage alten Krötenlarve. 1000fache Vergrösserung.

Fig. 35. Leberzellkerne einer 29 Tage alten parthenogenetischen Krötenlarve. 1000fache Vergrösserung.

Fig. 36. Schnitt durch den Unterkieferknorpel einer 29 Tage alten Krötenlarve. Circa 300fache Vergrösserung.

Fig. 37. Schnitt durch den Unterkieferknorpel einer 29 Tage alten parthenogenetischen Krötenlarve. Dieselbe Vergrösserung wie in Fig. 36.



Aus dem Histologisch-embryologischen Institut München.
(Direktor: Prof. Mollier.)

Beobachtungen über die Plastosomen von Ascaris megalocephala während der Embryonalentwicklung unter besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens in den Stamm- und Urgeschlechtszellen.

Von

B. Romeis,
Assistent am Histologisch-embryologischen Institut München.

Hierzu Tafel VIII, IX und 2 Textfiguren.

Inhalt.

Einleitung: Literaturübersicht.

In einer zusammenfassenden Arbeit über die „Mitochondria“ (1902) hat Benda als erster das Vorhandensein der von ihm entdeckten Zellbestandteile in Embryonalzellen festgestellt. Diese Beobachtung gewann aber erst weiteres Interesse, als Meves

(1907, 1908) die beständige Anwesenheit von Plastosomen [1]) in den Zellen von Hühnchenembryonen dartat und dann ferner auf die Bedeutung dieser Zellteile für weitere Differenzierungsprodukte des embryonalen Protoplasmas hinwies (1909, 1910). Fast gleichzeitig mit ihm veröffentlichte Duesberg analoge Arbeiten über das Vorkommen von Plastosomen in den Embryonen der Biene (1908) und des Kaninchens (1910) und weiterhin über ihren Anteil bei der Entstehung von Myofibrillen (1909, 1910). Diese Untersuchungen über die Bedeutung, welche die Plastosomen der Embryonalzellen für die Entstehung fibrillärer Strukturen besitzen, wurden dann noch von verschiedenen Forschern aufgenommen und fortgesetzt (Rubaschkin [1909], Hoven [1910], Schaxel [1912], Regaud).

Bei der Wichtigkeit, die man ferner dank der Arbeiten von Benda, Meves, Duesberg allmählich den Plastosomen der Geschlechtszellen zuerkennen musste, war es erklärlich, dass man schliesslich auch deren Stammzellen, die Urgeschlechtszellen, auf das Vorhandensein von Plastosomen hin untersuchte. Rubaschkin (1910) war der erste, der auf frühe Stadien der Urgeschlechtszellen einige zur Darstellung der Plastosomen gebräuchliche Methoden anwendete. Er stellte dabei fest, dass die Urgeschlechtszellen bei Säugetieren körnige Mitochondrien (Plastochondrien) besitzen und sich mittels dieses Merkmals von den übrigen Zellen des Embryos unterscheiden lassen. Die Angaben Rubaschkins fanden in den Untersuchungen Tschaschins über die Urgeschlechtszellen von Vogelembryonen volle Bestätigung. Weitere Beobachtungen über mitochondriale und andersartige Körperchen in den Urgeschlechtszellen junger Vogelembryonen brachte von Berenberg-Gossler (1912, a und b). In einer vor kurzem erschienenen Arbeit bestätigte Rubaschkin (1912) die von ihm

---

[1]) Um Verwirrungen durch die etwas komplizierte Nomenklatur der in Frage kommenden Zellbestandteile vorzubeugen, sei folgendes bemerkt: Nach dem Vorschlag von Meves werde ich danach trachten, für die als Mitochondrien oder Chondriosomen (Chondriomiten oder Chondriokonten) bezeichneten Gebilde den Namen Plastosomen (zerfallen je nach Form in Plastochondrien und Plastokonten) zu gebrauchen. Da die Berücksichtigung der Literatur aber manchmal noch die Anwendung der anderen Bezeichnungen nötig macht, ist zu beachten, dass mit Mitochondrien, Chondriosomen und Plastosomen das gleiche gemeint ist. Dagegen haben wir unter Chromidien etwas ganz anderes zu verstehen.

früher veröffentlichten Befunde über die Urgeschlechtszellen und verfolgt deren weitere Entwicklung bis zum Abschluss des Embryonallebens.

Nun hat Meves in den letzten Jahren (1910, 1911, 1912) nachgewiesen, dass die Plastosomen männlicher Samenzellen in die Eizelle mit eindringen und sich dort erhalten. Diese Angabe wurde für Ascaris auf dem heurigen Anatomenkongress von Held (1912) bestätigt. Dadurch haben sich also die Vermutungen von Benda, Meves und Duesberg über das Erhaltenbleiben der männlichen und weiblichen Plastosomen bei der Befruchtung erfüllt; die Plastosomen der Samenzellen haben damit eine wichtige theoretische Bedeutung vom Gesichtspunkte der Vererbung aus erhalten. Nachdem es gelungen ist, ihre Kontinuität bei der Befruchtung zu entdecken, ist es aber auch von Interesse, zu untersuchen, ob die Plastosomen in der ganzen Entwicklungsreihe der Geschlechtszellen integrierende Zellbestandteile sind.

In der obigen Literaturübersicht habe ich bereits die Angaben zusammengestellt, welche wir über die Plastosomen der Urgeschlechtszellen des Embryos besitzen. Wenn man nun die frühesten Entwicklungsstadien berücksichtigt, auf welchen die Plastosomen der embryonalen Urgeschlechtszellen beschrieben sind, so ergibt sich folgendes:

Rubaschkin (1910, 1912) bei Meerschweinchenembryonen mit vier Segmenten.

Tschaschin (1910): Hühnchenembryo von 24 Segmenten (also etwa 2 Tage Bebrütung).

v. Berenberg-Gossler (1912): Hühnchen- und Entenembryonen von etwa 3—4 Tagen.

Held (1912): Erste Furchung bei Ascaris.

Daraus sieht man, dass Beobachtungen über die Stammzellen und frühesten Stadien von Urgeschlechtszellen fehlen. Diese Lücke möchte ich mit den vorliegenden Untersuchungen ausfüllen.

II. Material und Technik.

Als Untersuchungsmaterial wählte ich die Embryonalstadien von Ascaris megalocephala. Dieses Tier bietet die Vorteile, dass bei ihm durch die Untersuchungen von Boveri (1899), Zoja (1896), v. zur Strassen (1896) und H. Müller (1903) die Topographie der Urgeschlechtszellen bis zu ziemlich weit ent-

wickelten Stadien genau bekannt ist. Ferner ist bei ihm auch schon der Übertritt der Plastosomen des Spermiums bewiesen.

Die verschiedenen Entwicklungsstadien der Embryonen sind von Ascaris bekanntlich leicht zu bekommen. Eine jede der vorgeschlagenen Methoden führt zum Ziel. Die besten Resultate erhielt ich bei folgendem Verfahren: Die Würmer, welche unter möglichster Vermeidung von Wärmeverlust aus dem Schlachthof in einer abgebundenen Darmschlinge ins Institut geschafft wurden, kamen gleich nach dem Transport in einen Thermostaten bei 39 ⁰ C. Dann präparierte ich in einem heizbaren Präparierschrank die Uteri heraus und brachte die untersten etwa 2 cm langen Teile in 2 % Kaliumbichromatlösung oder Formalin 1 : 30. In diesen Lösungen entwickelten sich die Eier sehr schön und gleichmässig.

Bei der Fixierung hatte ich anfangs besonders bei den Stadien P_2, P_3 und P_4 Misserfolge. Auch gelang es zuerst nicht, die Entwicklung aller Eier auf einem bestimmten Stadium zum Stillstand zu bringen. Denn derartig rasch eindringende Flüssigkeiten, wie Pikrinessigsäure, welche Boveri benutzte, sind wegen der Auflösungsmöglichkeit der Plastosomen nicht zulässig. Schliesslich wendete ich nach vielen Versuchen hauptsächlich folgende zwei Verfahren an, die in jeder Beziehung befriedigende Resultate geben.

Bei dem ersten Verfahren fixierte ich die auf dem gewünschten Stadium stehenden Embryonen mit der von Golgi zur Darstellung des Apparato reticulare interno angegebenen Flüssigkeit, also mit Acid. arsenicos. konz. wässr., 90 % Alkohol, 20 % Formalin zu gleichen Teilen. Ich liess dieselbe 24 Stunden lang einwirken, behandelte aber nun nicht mit den Versilberungsflüssigkeiten weiter, sondern wusch einfach mit 70 % Alkohol aus und führte dann die Präparate durch steigenden Alkohol in der üblichen Weise weiter. Die Resultate wurden noch besser, als ich die Flüssigkeit bei einer Temperatur von 56 ⁰ einwirken liess, wobei die Embryonen sehr rasch abgetötet wurden. Die zweite Fixierungsflüssigkeit, die ich verwendete, ist die von Benda angegebene. Wegen der schwer durchdringlichen Eihüllen gibt sie jedoch nur dann gute Resultate, wenn man sie bei etwa 56 ⁰ C anwendet. In diesem Fall ist sie der erstgenannten Flüssigkeit noch vorzuziehen. Die Anwendung gestaltet sich folgendermassen: Kurz vor Gebrauch wird die von Benda modi-

fizierte Flüssigkeit zusammengesetzt und in kleinen gut verschlossenen Glasnäpfchen in einen auf 58° erwärmten Thermostaten gestellt. Wenn die Temperatur erreicht ist, werden kleine, etwa 3 mm lange Uterusstückchen, welche die Embryonen enthalten, in die Flüssigkeit geworfen; dann werden die Glasschälchen auf 3—4 Stunden in einen Wärmeschrank von 35—40° C gebracht. Hierauf bleiben die Objekte noch 8 Tage bei Zimmertemperatur in der Lösung und werden dann nach den üblichen Bendaschen Vorschriften weiterbehandelt. Die Einbettung erfolgte sehr vorsichtig und langsam durch Chloroform in Paraffin.

Die Färbung macht bei jüngeren Stadien keine Schwierigkeit. Sowohl nach Benda, Regaud wie Altmann bekommt man vorzügliche Bilder. Anders dagegen bei den späteren Embryonalstadien, bei denen infolge der sehr geringen Grösse der Zellelemente die sichere Unterscheidung von Chromatin, Nucleolen und Plastosomen nach der gewöhnlichen Anwendungsweise der Methoden fast unmöglich war. Ausserdem wurde die Sache auch dadurch noch erschwert, dass für die späteren Stadien die Topographie und das Verhalten der Urgeschlechtszellen noch ermittelt werden musste, da die Untersuchungen der oben genannten Autoren nicht soweit reichen. Es waren also auch noch die Unterschiede des Chromatins der verschiedenen Zellen zu berücksichtigen. Infolgedessen war es nötig, zuerst einmal eine reine Kernfärbung zu gebrauchen. Ich bleichte die nach Benda fixierten Objekte mittels der Pahlschen Methode und färbte 24 Stunden mit der von Flemming angegebenen Safraninlösung. Hierauf wurde mit 80% Alkohol 5—10 Sekunden abgespült, in 96% Alkohol getaucht und in absolutem Alkohol, dem auf 100 ccm fünf Tropfen konzentrierter alkoholischer Pikrinsäure zugesetzt wurden, differenziert; dann wurde in reinem absolutem Alkohol gut ausgewaschen und durch Xylol in Kanadabalsam eingedeckt. Auf diese Weise erhält man eine sehr distinkte Kernfärbung. Das Chromatin der Urgeschlechtszellen besitzt die vorteilhafte Eigenschaft, sich stärker zu tingieren als das der somatischen Zellen. Dadurch wird die sichere Bestimmung der Urgeschlechtszellen sehr erleichtert. Wenn man jedoch die Präparate bei weissem Licht betrachtet, so wird man, da die Partikelchen äusserst fein sind, und so minimal rote Farbkörnchen gegenüber den weissen und gelben Lichtstrahlen sehr wenig kontrastreich

sind, ohne weitere Vorkehrungen nicht sehr viel sehen. Es handelt sich also darum, durch Vorsetzen geeigneter Filter das rote Farbbild in ein schwarzes zu verwandeln, und dies gelingt in vorzüglicher Weise mittels der Quecksilberquarzlampe von Zeiss und des von Köhler berechneten Filters. So ist es möglich, in exakter Weise die Urgeschlechtszellen zu erkennen. Ich zeichnete sie dann mittels des Abbeschen Prismas heraus und bestimmte die genaue Lage mit dem Kreuztisch, dann brachte ich das Präparat wieder in Xylol, löste das Deckglas ab, führte das Präparat bis in Wasser und liess nun eine Färbung der Plastosomen nach Regaud oder Benda folgen. Dann wurden die vorher gezeichneten Stellen wieder aufgesucht und nunmehr die Plastosomen eingetragen. Damit die Objekte bei dem etwas langwierigen Vorgang nicht abschwimmen, ist es natürlich nötig, sie auf ganz saubere und fettfreie Objektträger aufzukleben. Ich lege daher die vorher in gewöhnlicher Weise gereinigten Objektträger in eine Mischung von Benzin, Äther und Chloroform zu gleichen Teilen.

Sehr gute Kernfärbungen erreicht man auch mit dem von Ehrlich angegebenen Hämatoxylin.

Ausser den oben genannten Fixierungsflüssigkeiten wandte ich noch die Fixierungen von Carnoy (3 : 1), dann Pikrinessigsäure, Sublimateisessig und das Sublimatgemisch von Lenhossék an und zwar besonders deshalb, um ihre Einwirkung auf die Plastosomen und das Protoplasma zu studieren. Ferner kamen die Angriffe, welche Retzius (1911) gegen die Lehre von den Mitochondrien erhebt, in Betracht. Gefärbt habe ich nach diesen Methoden hauptsächlich mit dem Ehrlich-Biondischen Farbgemisch, mit Eisenhämatoxylin, Fuchsin oder Eosin, Ehrlichschem Hämatoxylin und nach Mann.

III. Untersuchungen.

1. Nachweis der Plastosomen in den verschiedenen Entwicklungsstadien:

a) von der Eizelle bis zum Auftreten der Urgeschlechtszellen. — Bemerkungen über das Verhalten der Plastosomen bei der Mitose, sowie über die Form ihrer Vermehrung.

Das Verhalten der Plastochondrien in der befruchtungsfähigen Eizelle ist von den Mevesschen Untersuchungen (1910)

her bekannt. Der nämliche Forscher hat dann gezeigt, dass nach dem Eindringen des Spermiums in die Eizelle eine Aussat der männlichen Plastosomen erfolgt. Hierbei beschreibt Meves, dass die grösseren männlichen Plastosomen in kleinere Körnchen zerfallen, die ungefähr die Grösse der weiblichen besitzen und sich im weiteren Verlauf so unter die letzteren mischen, dass sie nicht mehr von ihnen zu unterscheiden sind. Held (1912) dagegen gelang es mittels einer von ihm entdeckten, aber noch nicht genau angegebenen Methode (Färbung mit der Altmannschen Säurefuchsin-Pikrinsäure-Methode und Molybdänhämatoxylinfärbung), auch die vermischten Plastosomen durch differente Färbung in weibliche und männliche Elemente zu scheiden. Ferner fand Held, dass die Plastochondrien des Spermiums in die Eisubstanz hinauszentrifugiert werden, so dass man sie als grössere Körnchen oft ganz in der Peripherie des Eies auffinden kann. Dieselbe Beobachtung hatte ich bereits voriges Jahr — also unbeeinflusst von Held — an vielen meiner Präparate gemacht. Bei anderen konnte ich sie jedoch nicht bestätigt finden. Meves versicherte mir auch, dass er sie an seinen Präparaten nicht sehen konnte, und da an der Vollkommenheit seiner Technik nicht zu zweifeln ist, besteht die Möglichkeit, dass beide Vorgänge auftreten. Es scheint, dass bei den Eiern, die Meves zu seinen Untersuchungen benutzte, der Zerfall der grossen männlichen Plastosomen schon in unmittelbarer Nähe des Spermiums erfolgte. Infolgedessen bleibt die im anderen Falle durch die Zentrifugierung hervorgerufene Untermischung beider Plastosomenarten vorerst noch aus, um erst etwas später während der Veränderungen und Verschiebungen zu erfolgen, welche dem Beginn der ersten Furchung im Protoplasma des Eies vorausgehen. Für Meves hypothetische Annahme einer Verschmelzung je eines männlichen und eines weiblichen Körnchens konnte ich ebensowenig wie Held einen Beweis finden.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung beschreibt Held, dass sich die grossen männlichen Granula zur Zeit der Vorkernbildung oft in Ringe umwandeln, die an einer Stelle reissen und sich zu Stäbchen strecken. Diese zerfallen dann in mehrere hintereinander liegende Körnchen. Auch diesen Vorgang konnte ich nunmehr an meinen Präparaten verfolgen. Daneben gibt Held an, dass die grossen männlichen Plastosomen (die Makrosomen

Helds) auch direkt ohne Ringbildung in Körner zerfallen können. Ich habe ebenfalls Präparate, auf welchen dieser Zerkleinerungsmodus häufiger zu sehen ist, als der ersterwähnte. Ich glaube, dass dieser Befund im Verein mit dem oben Gesagten dazu beitragen kann, die anfangs different gegenüberstehenden Meinungen von Held und Meves zu vereinen. Bei der Feststellung von gekrümmten Stäbchen muss man übrigens mit Vorsicht verfahren, wie ich aus Präparaten, in denen auch Fettkörper eine ähnliche Form angenommen haben, gesehen habe. Ähnliche Körperchen bildet Meves auf Taf. XXIX, Fig. 13—15, 17 und 18 ab. Er hält sie für Überbleibsel der corpuscules réfringents.

Die gekrümmten Plastokonten und die Vierkörnerreihen finden sich auch noch in den beiden ersten Furchungszellen, der Ursomazelle und der Stammzelle I. Ordnung P_1. Auf die weiteren Details, die die Plastochondrien und das Protoplasma dieser beiden Stadien bieten, gehe ich nicht näher ein, da wir ja darüber noch eine ausführliche Veröffentlichung von seiten Helds zu erwarten haben. Für den Zweck der vorliegenden Arbeit genügt die Feststellung, dass in den beiden ersten Blastomeren Plastosomen vorhanden sind, welche direkt auf die der beiden Keimzellen zurückgehen.

Gegen das Fortbestehen der Plastosomen des Spermiums in der befruchteten Eizelle haben sich auf Grund ihrer Untersuchungen an Ascar. megal. zwei Autoren ausgesprochen: Vejdovsky (1911) und Retzius (1911). Beide nehmen eine Assimilation der männlichen Plastosomen durch das Protoplasma der Eizelle an. Nach meinen Untersuchungsresultaten muss ich mich jedoch auf die Seite von Meves und Held stellen, welche beide für das Fortbestehen der männlichen Plastosomen eintreten. Mit dem Nachweis des Fortbestehens fällt aber die Beweisführung Vejdovskys, dass den Plastosomen hinsichtlich der Vererbung keine Bedeutung zukommt.

Bei der Schilderung der folgenden Stadien werde ich mich an die Bezeichnungen halten, wie sie Boveri (1899) in seiner Arbeit über die Entwicklung von Asc. meg. benutzt hat. Beim Zeichnen meiner Figuren war ich bestrebt, die verschiedenen Entwicklungsstadien immer so auszuwählen, dass sie den Abbildungen Boveris möglichst entsprechen. Ich glaube, dass ich dadurch der Aufgabe enthoben bin, bei jeder Stammzelle erst den Nachweis zu führen, dass es dieselbe auch wirklich ist.

Stammzelle II. Ordnung. Fig. 1 stellt ein Vierzellenstadium dar. Die Teilungen in A und B, S_2 und die Stammzelle II. Ordnung P_2 sind eben vollendet. Die Blastomeren liegen noch in der charakteristischen T-Form angeordnet. Das Protoplasma der Zellen ist von grösseren und kleineren Vakuolen durchsetzt. Die Plastosomen liegen im ganzen Zellinnern verstreut, am spärlichsten in der Nähe der noch vorhandenen Polstrahlungen, am zahlreichsten an den Seiten. Zwischen P_2 und S_2 ist der Teilungsvorgang schon etwas länger vollendet als zwischen A und B. Infolgedessen sieht man zwischen den beiden erstgenannten Zellen bereits eine grössere Anzahl von Plastosomen als zwischen letzteren.

Die Plastosomen verhalten sich nämlich während der ersten Furchungsteilungen hinsichtlich ihrer allgemeinen Lagerung im Verlauf der Mitose folgendermassen: Beim Erscheinen der Centrosomen räumen sie immer mehr den Bereich der entstehenden Polradien. Infolgedessen treten die Felder der Polstrahlungen als helle Flecken immer stärker hervor und wenn dann die Äquatorialplatte ausgebildet ist, finden sich an den beiden gegenüberliegenden Zellpolen nur mehr sehr spärliche Plastochondrien, die Region der sogenannten Zugfasern (nach Geigel [1912] besser Druckfasern) ist vollkommen frei davon. Dadurch wird die Hauptmasse der Plastosomen auf die Seitenwände der sich teilenden Zelle geschoben. Auch während der Metaphase bleiben die Verbindungsfasern in der ersten Zeit noch frei, allmählich aber dringen die Körnchen immer mehr zwischen die neuentstandenen Kernhälften ein. Wenn sich die beiden Tochterzellen durchgeschnürt haben, liegt die Hauptmasse der Plastosomen in der Gegend der sich berührenden neugebildeten Zellwände. Dann tritt allmählich wieder eine gleichmässige Verteilung der Plastosomen innerhalb des Zellinnern ein. Diese Bewegungen sind wohl auf Strömungen innerhalb des Protoplasmas zurückzuführen.

Der geschilderte Vorgang lässt gewisse Ähnlichkeit mit dem Verhalten der Plastosomen während der Mitose bei den Spermatocyten von Geotriton erkennen, worüber Terni (1912) in einer kürzlich erschienenen Arbeit genau berichtet hat. Es ist natürlich nicht zu erwarten, dass sich die Vorgänge der beiden Tiere etwa decken. Aber immerhin ergeben sie in vieler Hinsicht Übereinstimmungen. So zeigen die Figuren Ternis ebenfalls das allmähliche Zurückweichen der Plastosomen von den

Polstrahlungen, das Freibleiben der Spindel, das tonnenartige Zusammendrängen der Plastosomen an den Seitenwänden der Zelle und ihr Eindringen zwischen die beiden auseinanderweichenden Tochterkerne. Dagegen lässt sich die von Terni bei Geotriton beobachtete Kuppenbildung bei den Furchungszellen von Ascaris nicht feststellen. Dies ist wohl aus den Mengenverhältnissen von Protoplasma und Kern, das bei beiden Objekten so verschieden ist, zu erklären. Ferner fand Terni, dass im letzten Stadium einer Zellteilung eine transversale Teilung jedes einzelnen Chondriokonten (Plastokonten) erfolgt, worauf je eine Hälfte in die neugebildete Tochterzelle übergeht. Dieser Vorgang findet bei den Ascarisblastomeren nicht statt. Hier wird vielmehr die Masse der innig vermischten Plastosomen in ihrer Gesamtheit in zwei Hälften geteilt.

Auch bei anderen Untersuchungsobjekten wurde auf das Verhalten von Plastosomen während der Mitose geachtet. So z. B. von Benda bei Salamander (1902), von Meves bei den Samenzellen von Pygaera (1903), Paludina (1903), Apis mellifica (1907), bei Bindegewebszellen von jungen und älteren Hühnerembryonen (1908 und 1910), von Duesberg und Meves bei den Spermatocyten der Hornisse (1907), von Duesberg bei Geschlechtszellen der Ratte (1908), von Blaps, Blatta germanica, Triton cristatus, Cavia cobaya (1911), bei Somazellen des Hühnerembryos (1910), von Rubaschkin (1910) in den Embryonalzellen des Meerschweinchens usw.

Aus all diesen Untersuchungen geht hervor, dass einerseits im Verhalten der Plastosomen während der Teilung der Zelle grosse Verschiedenheiten bestehen, dass sie aber andererseits in den gleichen Zellen in gleicher Weise erfolgt, dass sich also die Plastosomen der einzelnen Zellarten bei der Zellteilung typisch verhalten. Bestimmend für das Verhalten der Plastosomen während der Mitose sind meines Erachtens vor allem folgende Momente:

1. Form und Topographie der Plastosomen.
2. Menge des Protoplasmas.
3. Allgemeine Lagebeziehungen der teilenden Zellen zur Umgebung.

Das Schlussresultat ist bis auf einige Ausnahmen dasselbe, nämlich eine ziemlich gleichmässige Verteilung der Plastosomen auf beide Tochterzellen. Eine Ausnahme machen meist jene

Fälle, in denen ungleiche Protoplasmateilung erfolgt. Besitzen ferner die Plastosomen kugelige Form, so findet in den meisten Fällen vorher eine Durchmischung der einzelnen Körner statt, sind sie Stäbchen, so tritt meistens eine transversale Teilung derselben ein.

Was die ungefähre Menge der Plastosomen in den einzelnen Blastomeren betrifft, so fällt auf, dass sie in den Stammzellen niedriger ist als in den Somazellen. Wie wir bei der Betrachtung der folgenden Figuren noch sehen werden, ist dies während der ganzen Entwicklungsperiode der Fall. Die Erklärung dieser Beobachtung suche ich in folgendem: Fürs erste ist bei der Teilung der Stammzellen — wie auch Boveri beschrieben hat — die neuentstehende Stammzelle während der ersten Generationen in den meisten Fällen etwas kleiner als die neugebildete Somazelle. Dementsprechend erhält auch die letztere mehr Plastosomen als die erstere. Ferner glaube ich, dass unter den Plastosomen der Stammzellen Vermehrungen nur in ganz geringem Maßstabe stattfinden. Dafür spricht der Befund, dass man in den Stammzellen (besonders bei den späteren Generationen) im Gegensatz zu den somatischen Zellen die Mehrzahl der Plastosomen als einzelne isoliert liegende Körnchen sieht. In den Somazellen dagegen liegen sie meistens zu zweien oder mehreren in Gruppen beisammen. Hier tritt auch anscheinend bald nach der Teilung eine Vermehrung der Plastosomen ein, welche man sich durch irgend welche Funktionsreize veranlasst denken kann. Bei den Stammzellen und Urgeschlechtszellen bleibt dagegen diese Zunahme aus. Erst viel später, gegen das Ende der Vermehrungsperiode der Oogonie zu (also schon im herangewachsenen Wurm), setzt ein stärkeres Wachstum ein, das dann, wie ich später noch zeigen werde, ganz überraschende Dimensionen annimmt.

Die Vermehrung der Plastosomen geht bei dem vorliegenden Objekt in folgender Weise vor sich: Zuerst bildet sich an irgend einer Stelle des kugeligen Körnchens eine kleine Erhebung, die allmählich zunimmt, bis ein kommaartiges Körperchen entsteht. Langsam wächst das Volumen des Auswuchses an, dann tritt an der Wurzel desselben eine immer tiefer einschneidende Schnürfurche auf und schliesslich liegt neben der grösseren Kugel ein kleines Körperchen, das anfangs noch durch einen feinen ungefärbten Strang mit dem Mutterplastochondrium verbunden ist (vgl. Textfig. A).

Eine Variation dieser Vermehrung spielt sich folgendermassen ab: Aus der runden Kugel bildet sich allmählich ein eiförmiges Körperchen, aus dem sich immer mehr ein Stäbchen

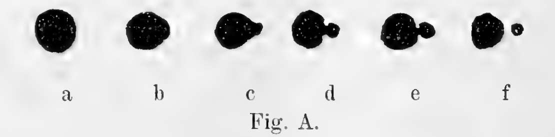


Fig. A.

hervorstreckt. Nach und nach tritt eine leichte Einschnürung auf, wodurch das Plastochondrium kurze Biskuitform annimmt. Schliesslich schnürt es sich durch und zerfällt so in zwei Kugeln, die vorerst noch durch eine feine Brücke verbunden bleiben (vgl. Textfig. B).

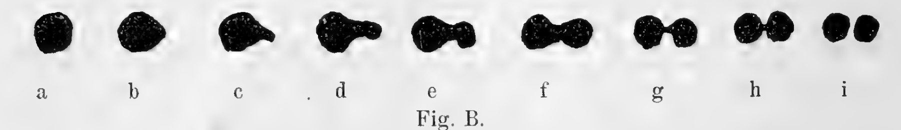


Fig. B.

Nach der Teilung setzt wiederum ein Wachstum ein.

Das Beschriebene erinnert an eine Beobachtung Rubaschkins an, der daraus, dass er in den Zellen von jungen Meerschweinchenembryonen häufig zwei wie Diplokokken nebeneinander liegende Körnchen beobachten konnte, den Schluss zog, dass es sich hier um einen Vermehrungsvorgang handelt.

Von Interesse ist ein Vergleich mit den Vermehrungsformen, die Fauré-Fremiet bei den Plastochondrien der Protozoen entdeckt hat. Obwohl im Prinzip gleich, verläuft der Vorgang doch unter anderer Form. Hoven (1910, 1912) hat eine Vermehrung der Plastokonten durch Längsspaltung aufgefunden. Diesen Beobachtungen liessen sich noch weitere hinzufügen. Sie zeigen, dass die Vermehrung der Plastosomen ebenso wie ihr Verhalten bei der Mitose der Zelle verschieden ist. Massgebend für die Art der Vermehrung ist in erster Linie die Form der Plastosomen und diese hinwiederum ist in weitgehendem Maße bedingt durch den Funktionszustand der Zelle. Ausserdem bestehen, wie unter anderem auch die Untersuchungen von Mislawsky (1911) zeigen, noch je nach der Tierspezies Formverschiedenheiten der Plastosomen.

Als Verschmelzung kann der oben beschriebene Vorgang deshalb nicht gedeutet werden, weil dann entsprechend seiner

Häufigkeit die Körnchen im Verlauf der Entwicklung an Zahl abnehmen und an Grösse zunehmen müssten, was in Wirklichkeit nicht der Fall ist.

Ausser diesen eben beschriebenen Formen sieht man auch noch kleine Kettenfäden. Sie werden aus mehreren Kugeln gebildet, welche durch eine feine, schwach gefärbte Zwischensubstanz aneinandergereiht werden; letztere kann meist nur bei stärkster Vergrösserung und bei Beleuchtung mit der Quarzquecksilberlampe wahrgenommen werden. Es ist denkbar, dass diese Körnerfäden auf die männlichen Plastosomen zurückgehen.

Eine ähnliche Anordnung in Kettenform kommt ferner noch dadurch zustande, dass der gegenseitige Druck der deutoplasmatischen Einlagerungen des Protoplasmas in den schmalen Zwischenwänden ein Aneinanderreihen der einzeln liegenden Plastochondrien bedingt. Zwischen diesen Körnchenreihen konnte ich keine Verbindungsfäden auffinden.

Weiterhin kann man besonders in den jüngeren Stadien spärlichen kurzen Stäbchen begegnen.

Stammzelle III. Ordnung. Das Stadium von Fig. 2 entspricht etwa der auf Fig. 13 von Boveri abgebildeten Entwicklungsstufe. In dreien der abgebildeten Somazellen spielen sich gerade Mitosen ab Die grossen schwarzen, einander gegenüberliegenden Körperchen sind die Centrosomen. Bei a sieht man eine schräg getroffene Äquatorialplatte. Die Stammzelle III. Ordnung, P_3, befindet sich im sogenannten Ruhestadium kurz nach der Teilung; die neuentstandene Ursomazelle S_3 wäre auf dem nächstfolgenden Schnitt zu sehen. Die Kernmembran ist in der charakteristischen Weise ausgesackt; in den Fortsätzen stecken die Enden der Chromosomen.

Die Plastosomen sind im Protoplasma der ganzen Zelle verstreut. Vergleicht man ihre Zahl mit der der Somazellen, so findet man das, was oben schon darüber gesagt wurde, bestätigt. Ferner fällt auf, dass in ihr viel weniger Vermehrungsformen zu sehen sind. Das spricht also ebenfalls wieder für die oben geäusserte Ansicht, dass in den Stammzellen keine starken Vermehrungsvorgänge stattfinden.

Hinsichtlich der durchschnittlichen Grösse der Plastosomen kann man die Beobachtung machen, dass sie bei Eiern verschiedener Individuen von Ascaris megalocephala nicht immer gleich gross

ist. Jedoch muss man sich vor Verwechslungen mit Unterschieden hüten, welche sowohl durch die Wirkung der Fixierungsflüssigkeit wie durch ungleich lange Extraktion der Färbung hervorgerufen werden können.

Stammzelle IV. Ordnung. Auf Fig. 3 ist die Stammzelle in der vierten Generation abgebildet. Sie befindet sich ebenfalls, wie es beim vorhergehenden Stadium der Fall war, gerade im sogenannten Ruhezustand. Die Zahl ihrer Plastosomen ist mit den Plastosomen der Somazelle verglichen wiederum zurückgegangen. Im Protoplasma der Ektodermzellen liegen dagegen ziemlich viel Körnchen, ebenso in den Stammzellen des Ektoderms. Durch die deutoplasmatischen Zelleinschlüsse, die jetzt als Vakuolen erscheinen, werden die Plastosomen vielfach zu Reihen geordnet. Auch die oben erwähnten Vermehrungsformen lassen sich auffinden.

b) Nachweis der Plastosomen bis zum Abschluss der Embryonalzeit. — Bemerkungen über das Verhalten der Urgeschlechtszellen, ferner über die Beteiligung der Plastosomen an der Fibrillenbildung.

Entstehen und Auftreten der Urgeschlechtszellen (Fig. 4). Die Untersuchung der nächstfolgenden Stammzellengeneration rollt die Streitfrage auf, ob man die Tochterzellen von P_4 als P_5 und S_5 nach Boveri (1899) oder als U_1 und U_2 nach v. zur Strassen (1896), Zoja (1896) und H. Müller (1903) aufzufassen hat. Ich muss mich nach meinen Präparaten der Meinung der letzteren Autoren anschliessen. Es gelang mir weder eine nochmalige Teilung einer der beiden Zellen zu beobachten, noch Anzeichen eines nochmaligen Diminutionsvorganges aufzufinden. In einer seiner letzten Publikationen (1910) nimmt Boveri ebenfalls eine Teilung von P_4 in U_1 und U_2 an.

Im Protoplasma der beiden Urgeschlechtszellen lassen sich Plastosomen feststellen. Ihre Zahl entspricht ungefähr der Menge, welche in P_4 vorhanden war. Sie sind auf beide Zellen gleich verteilt. Eine genaue Feststellung der Zahl ist jedoch mit grossen Schwierigkeiten verknüpft, da die Urgeschlechtszellen infolge ihrer Grösse meist nur zum Teil auf einem Schnitte liegen und weil ferner bei Methoden, die für die Darstellung der Plastosomen geeignet sind, eine ganz scharfe Abgrenzung ihres Zelleibes

besonders gegenüber den Entodermzellen sehr schwer ist. In jedem der vielen untersuchten Präparate war die Zahl der Plastosomen in den Urgeschlechtszellen geringer als in den anderen Zellen. Hier kann man noch immer einzelne kleine Viererketten auffinden, dann Zweiergruppen und Kettenreihen, welche durch die Protoplasmaeinlagerungen veranlasst werden. Besonders zahlreich sind sie in den grossen Entodermzellen.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung werden nun die Urgeschlechtszellen in das Innere der Leibeshöhle einbezogen. Ein solches Stadium zeigt Fig. 5, welche ungefähr der Entwicklungsstufe entspricht, die H. Müller auf Taf. III, Fig. 13 abgebildet hat. Die eine Urgeschlechtszelle — die zweite ist auf dem nächstfolgenden Schnitt getroffen — liegt unter zwei grossen, noch nicht weiter differenzierten Entodermzellen, deren Protoplasmaleib, wie aus den Vakuolen zu sehen ist, von reichlichem Dottermaterial strotzt. Dazwischen finden sich zahlreiche Plastosomen als isolierte Körner zu zweien oder zu Ketten geordnet. Die Urgeschlechtszellen besitzen ein noch ziemlich beträchtliches Protoplasma, in dem einzelne Plastochondrien liegen. Das Chromatin des Kernes liegt in Brocken teils auf dem Liningerüst, teils an der Kernmembran. Im Gegensatz zu dem Chromatin der ruhenden Somazellen, das es an Masse bedeutend übertrifft, tingiert es sich nach Fixierung in den Flüssigkeiten von Flemming, Benda oder Golgi mit Kernfarbstoffen sehr intensiv. Ebenfalls sehr dunkel gefärbt, rein morphologisch aber etwas different ist es nach Carnoy-Fixation. Nach Fixierung in Sublimat oder Sublimat-Alkohol nach Lenhossék kommt die Färbungsdifferenz nicht so sehr zur Geltung. Wahrscheinlich spielt bei dem Färbungs-Unterschied zwischen dem Chromatin der Somakerne und der Geschlechtskerne neben der Masse auch die Dichtigkeit eine Rolle.

Die nächsten Fig. 6 und 7 bringen eine noch spätere Entwicklungsstufe. Sie stammen von einem Würmchen, das innerhalb der Eihülle zu einem Ringe aufgerollt ist. Sie entsprechen also ungefähr dem Stadium, dessen Oberfläche H. Müller in Fig. 21 gezeichnet hat. Die Urgeschlechtszellen hat der Autor nicht mehr bezeichnet. Ich vermute, dass er sie mit den zwei gestrichelten Zellkonturen andeuten wollte.

Auf Fig. 6 ist ein Teil des sich ringelnden Würmchens der Länge nach angeschnitten. Im Protoplasma der flachen Ektoderm-

zellen liegen in ziemlicher Zahl Plastochondrien. Unter dem Ektoderm folgt als schmaler Spalt die Leibeshöhle. In der Mitte sieht man grosse Entodermzellen mit blassgefärbtem Chromatin, deren gegenseitige Zellgrenzen wenigstens bei der hier angewandten Methode nicht festzustellen sind. Das Protoplasma dieser Zellen ist sehr reich an Plastochondrien wie an Dottermaterial, das auf diesem Präparat zwar gelöst ist, jedoch an den Vakuolen erkannt werden kann. Durch das Reservematerial werden die Körnchen wieder auf die schon mehrmals erwähnte Weise zu Ketten geordnet. Ausser diesen grossen Entodermzellen sieht man ventral noch kleinere, welche dem Mesoderm zugehören. In ihrer Nähe liegen an dem Aussehen und der Masse ihres dunkelgefärbten Chromatins, an ihrer Grösse und ihrer charakteristischen Lage erkenntlich die beiden der Länge nach getroffenen Urgeschlechtszellen. Ihr Protoplasma enthält spärliche Plastochondrien.

Die Fig. 7 zeigt einen Querschnitt durch einen ungefähr im gleichen Entwicklungsstadium stehenden Wurmembryo in der Höhe der Genitalanlage. Die Ektodermzellen zeigen beiderseits seitlich eine Verdickung. Durch Mesodermzellen wird eine Art Brücke zu der grossen Urgeschlechtszelle gebildet. Über dieser liegt der stark vakuolisierte Entodermstrang. Alle Zellen bergen Plastochondrien.

Wenn man nun die bisher beschriebenen Urgeschlechtszellen miteinander bezüglich ihrer Kerngrösse vergleicht, so fällt ihre Abnahme hinsichtlich ihres Volumens auf. Schon bei Stadien, die hinsichtlich ihrer Entwicklung den auf Fig. 4 und Fig. 5 reproduzierten entsprechen, macht sich ein geringer Grössenunterschied geltend, obwohl man berücksichtigen muss, dass ein kleineres Aussehen auf einem Querschnitt oft durch eine stärkere Längenentwicklung der Zelle kompensiert wird. Zwischen den Stadien auf Fig. 5 und Fig. 7 ist jedoch eine Grössenabnahme absolut sicher. Da aber eine Zellverkleinerung im übrigen Gewebe des Ascaris-Embryos durch Teilung entsteht, suchte ich eifrigst danach, einen derartigen Vorgang auch im vorliegenden Falle feststellen zu können. Diese Frage ist noch deswegen von Interesse, weil Boveri als eine Stütze seiner Annahme von fünf Stammzellengenerationen geltend macht, dass auch das Grössenverhältnis zwischen seiner P_5 und seiner U_1 und U_2 für seine Ansicht

sprechen. Wenn dieser Grund stichhaltig wäre, dann müsste die in Fig. 5 abgebildete Urgeschlechtszelle halb so gross sein als die auf Fig. 4. Ferner könnte man dann mit dem gleichen Recht das Vorkommen einer Teilung zwischen der Urgeschlechtszelle auf Fig. 5 und der auf Fig. 6 annehmen. Dann müssten aber entweder immer mehr Urgeschlechtszellen auftreten, oder es würde im Falle eines nochmaligen Diminutionsvorganges die Zahl der Stammzellengenerationen vermehrt.

Trotzdem ich aber Hunderte von Embryonen in vorliegendem Entwicklungsstadium untersucht habe, konnte ich keine einzige Mitose von U_1 und U_2 konstatieren. Dieser negative Befund ist allerdings für sich allein betrachtet nicht völlig einwandfrei, da die Mitosen bis zum Eindringen der Fixierungsflüssigkeiten ablaufen könnten. Jedoch müssten dann wenigstens die Resultate der Teilung sichtbar sein. Es war also auch darauf zu achten, ob sich nicht etwa junge, aus der Teilung hervorgegangene Zellen finden lassen. Nun hat Martini (1906 bis 1909) bei Embryonen anderer Nematodenarten — Cucullanus elegans und Rhabditis nigrovenosa — nachgewiesen, dass die ersten zwei Urgeschlechtszellen sich nochmals teilen und dass so eine vierzellige Genitalanlage entsteht. Das gleiche hat auch Neuhaus (1903) bei Rhabditis nigrovenosa gesehen. Analog diesen Befunden könnte man daran denken, dass vielleicht die mit e oder m bezeichneten Zellen in Fig. 6 durch Teilung aus den Urgeschlechtszellen hervorgegangen sind. Durch das Studium der einzelnen Entwicklungsphasen konnte ich jedoch feststellen, dass das eine mesodermale Zellen sind, während die andere eine junge Entodermzelle ist. Bis zu der vorliegenden Entwicklungsstufe ist also die Genitalanlage bei Ascaris sicher nur zweizellig. Dies stimmt auch mit den Beobachtungen von H. Müller (1903) überein, die sich allerdings auf diese spätesten Stadien nicht mehr erstrecken. Ebenso hat Martini bei Pseudalius minor und Nematoxys ornatus nur zwei Urgeschlechtszellen festgestellt.

Da aber einerseits das Fehlen einer Teilung und andererseits eine Abnahme der Grösse festgestellt ist, muss man sich nach einer anderen Erklärung umsehen. Die Verkleinerung kann noch durch zwei Vorgänge erreicht werden, durch Abgabe von geformten Bestandteilen oder durch Abgabe von Flüssigkeit, wodurch eine Verdichtung der zurückbleibenden Substanz erzielt

wird. Nach den Beobachtungen, die ich an einer grossen Zahl von Präparaten anstellte, scheinen mir beide Vorgänge stattzufinden. Ich habe an einigen Hunderten von Urgeschlechtszellen, die zwischen beiden gezeichneten Stadien liegen, Messungen ausgeführt und dabei gefunden, dass bei ihnen eine ganz langsame Abnahme der Grösse eintritt, was ebensosehr für eine allmähliche Flüssigkeitsabgabe und Verdichtung, wie gegen eine in einem bestimmten Zeitpunkt erfolgende Teilung spricht. Die Fehlerquelle, die daraus entspringt, dass auch bei gleich weit entwickelten Embryonen desselben Muttertieres die Urgeschlechtszellen nicht immer ganz gleich gross sind — auch Verschiedenheiten, die durch andere Schnittrichtung entstehen, sind in Erwägung zu ziehen — suchte ich durch eine grosse Zahl von Messungen möglichst klein zu machen.

Während ich für diese allmähliche Verkleinerung des Kernes mit Sicherheit eintreten kann, kann ich für eine während dieser Periode stattfindende Chromatinabgabe keine absolut sicheren Beweise bringen. Jedoch macht sie folgende Beobachtung, die sich an einer grösseren Zahl von Urgeschlechtszellen machen lässt, wahrscheinlich. In solchen Fällen zeigt die für gewöhnlich glatt konturierte Kernmembran eine oder zwei Ausbuchtungen, die durch kleine Chromatinbröckelchen hervorgerufen werden. Manchmal sieht man auch einen längeren Fortsatz vom Kern wegziehen, der Chromatin enthält. Bei dem vorliegenden Objekt muss man natürlich daran denken, dass es sich etwa um ein vorstehendes Schleifenende handelt; aber in solchen Fällen müssten es dann zum mindesten zwei oder vier sein. Schlechte Fixierung kann auch daran nicht schuld sein, da man an keiner der somatischen Zellen dergleichen sehen kann. Ferner ist es meist nur an einer der beiden Urgeschlechtszellen zu beobachten. In manchen Fällen ist es zweifelhaft, ob die Kernmembran über oder unter dem Chromatinbröckelchen zieht, oder ob sie unterbrochen ist. Jedenfalls ist die Möglichkeit eines Austrittes von Chromatin auf diesem Stadium nicht zu leugnen. Dieser Befund würde aber erkennen lassen, dass noch nicht alles Chromatin der aus P_4 entstehenden Urgeschlechtszelle für die Vererbung in Betracht kommt. Er würde weiterhin die Unabhängigkeit der Plastosomen vom Chromatin zeigen, da — wie aus den vorliegenden Untersuchungen zu sehen ist — die in den Urgeschlechtszellen vorhandenen

Plastosomen nicht auf ausgetretenes Chromatin, sondern auf die Plastosomen der befruchteten Eizelle zurückgehen. Da ferner die Abgabe von Kernsubstanz in einer im vollkommenen Ruhestadium befindlichen Zelle erfolgt, in deren Protoplasma lange Zeit hindurch keine Veränderung eintritt, so würde dadurch bewiesen, dass die Abgabe von Kernsubstanz nicht der Anstoss oder das leitende Moment bei der Entstehung von Differenzierungsprodukten ist, wie von verschiedenen Seiten behauptet wurde. Ich möchte jedoch ausdrücklich betonen, dass ich dadurch Wechselwirkung zwischen Kern und den übrigen Bestandteilen der Zelle durchaus nicht in Abrede stelle.

Ein noch späteres Stadium zeigen die Figuren 8 und 9. Zu dieser Entwicklungsphase ist das Würmchen bereits mehrmals innerhalb seiner engen Eihülle aufgerollt. Infolge des fortwährenden Längenwachstums hat sich sein Breitendurchmesser noch mehr reduziert als im vorigen Stadium, die Zellgrösse der Somazellen hat weiter abgenommen und gestaltet dadurch die Analyse noch schwieriger als vorher. Trotzdem lässt sich mit Sicherheit feststellen, dass die Genitalanlage noch immer aus den zwei Urgeschlechtszellen besteht, die hinsichtlich ihrer Grösse nicht mehr merklich abgenommen haben. Auch jetzt gelingt es noch in ihrem Protoplasma Plastosomen nachzuweisen.

Auf Fig. 8 sieht man einen Teil des Würmchens der Länge nach getroffen. Die beiden Urgeschlechtszellen liegen noch immer in der typischen Weise hintereinander unter dem vakuolisierten Entodermstrang. Auf Fig. 9 ist ein gekrümmtes Stück des Würmchens der Fläche nach angeschnitten. Auf jeder der Abbildungen sieht man sowohl im Protoplasma der Urgeschlechtszellen, wie in dem der Entoderm- und Mesodermzellen Plastosomen. Am zahlreichsten sind sie im Entoderm. Dagegen sind sie im Ektoderm äusserst selten geworden. Dafür tritt hier ein Differenzierungsprodukt der Zellen auf, nämlich Fibrillen.

Obwohl das Objekt infolge seiner minimalen Grösse für eine Untersuchung der Histogenese der Fibrillen nicht gerade als günstig bezeichnet werden kann, gelang es doch festzustellen, dass die Plastosomen an der Entstehung der Fibrillen in hohem Maße beteiligt sind. Sie geht folgendermassen vor sich:

In den Zellen des Ektoderms hat sich das ursprünglich ziemlich stark vakuolisierte Protoplasma gegen die Oberfläche hin

zu einer homogen aussehenden Substanz umgebildet, welche als Cuticula aufzufassen ist. Nach Färbung mit Säurefuchsin nimmt sie bei vorsichtiger Behandlung eine zarte, ganz blassrote Farbe an. An der Innenseite dieses Saumes legen sich die kleinen Plastochondrien in kürzeren oder längeren Reihen hintereinander. Dann wird ihre Kontur etwas unscharf und zugleich bildet sich zwischen den einzelnen Körnern eine feine Zwischensubstanz aus, die ganz allmählich das Säurefuchsin stärker annimmt als die Cuticula. Die Körnchen sind nicht alle gleich gross; gewöhnlich sind die an den Enden des Streifens liegenden kleiner als die der Mitte: dadurch entsteht das Bild von zarten, an den Enden zugespitzten gekörnten Streifen. Mit der weiteren Entwicklung verschwimmt die Kontur der Körnchen immer mehr und mehr; gleichzeitig tritt aber eine sich steigernde Färbbarkeit der Fibrille sowohl mit Eisenhämatoxylin wie mit Säurefuchsin ein. Ein solches Stadium ist auf Fig. 12 abgebildet. Hier sieht man auch noch, dass sich die Körnchen allenfalls in zwei nebeneinanderliegende teilen können. Ferner, dass die einzelnen Fibrillen sich im weiteren Verlauf ihrer Entwicklung spalten können. Die Körnelung, die hier nur noch schwach zu sehen ist, verschwindet dann mehr und mehr, während die Tinktion der ganzen Fibrille immer intensiver wird.

Damit ist der Nachweis dafür erbracht, dass die Plastosomen bei der Fibrillenbildung (hier speziell Cuticulafibrillen) tätig sind. Diese Feststellung kann als Ergänzung zu den Beobachtungen dienen, welche Meves (1910 a) über die Entstehung der Sehnenfibrillen des Hühnchens gemacht hat. Sie füllt die kleine Lücke in der Darstellung der Genese der Fibrillen aus, auf die Meves selbst aufmerksam macht mit den Worten: „Allerdings ist die Kette der Beweise insofern nicht ganz geschlossen, als in den Figuren die Chondriokonten als getrennte Fadenstücke, die jungen Bindegewebsfibrillen dagegen von vornherein kontinuierlich erscheinen. Letztere Tatsache ist meines Erachtens so, wie ich es oben versucht habe zu erklären, dass die Chondriokonten ihre Verbindung auf einem Stadium bewerkstelligen, auf welchem sie infolge ihrer veränderten chemischen Beschaffenheit durch die angewandte Methode nicht darstellbar sind.“ Ich glaube, dass durch die oben geschilderte Beobachtung gezeigt wurde, dass die Angriffe Levis (1911), der infolge der

erwähnten Lücke die Rolle der Plastosomen bei der Fibrillenbildung angezweifelt hat, widerlegt und die Schlüsse von Meves bestätigt sind.

Dieses beschriebene Stadium ist das letzte, das ich an Embryonen beobachtete. Verschiedene Anzeichen deuten darauf hin, dass das Ende der Embryonalentwicklung erreicht ist. Das Würmchen hat kaum mehr Platz innerhalb seiner Hülle. Das Reservematerial ist fast ganz aufgebraucht; durch einen wohlausgebildeten Fibrillenmantel ist es gegen die Aussenwelt geschützt und so kann die Hülle platzen. Auf ziemlich schwachen Druck tritt dieser Vorgang ein und das Würmchen schlängelt heraus. Dass sich die Eihüllen auf diesem Stadium so leicht durch Druck öffnen lassen, beruht auf einer Änderung ihres Aufbaues. Dies lässt sich histologisch nachweisen. Während es zu früheren Zeiten nicht gelingt, in der anscheinend homogenen Eihülle (in der première couche perivitelline van Benedens) Strukturen nachzuweisen, zeigt sich jetzt in ihr eine Unzahl von spitzwinklig dicht miteinander verflochtenen Fibrillenbündeln, die sich immer stärker auflockern. Wodurch die Auflockerung hervorgerufen wird, kann ich nicht sagen. Jedenfalls kommen Verdauungssäfte des Wirtstieres nicht in Betracht, da man sie auch an den künstlich aufgezüchteten Embryonen vorfindet. Hinsichtlich der Art der Öffnung der Hüllen lässt sich aber der Schluss ziehen, dass sie nicht durch Verdauung, sondern durch mechanische Einwirkung erfolgt. Deshalb waren auch alle Verdauungsversuche, die ich anstellte, um die Eihüllen zu öffnen, fruchtlos. Es ist mir nun leider nicht geglückt, die jungen Tierchen künstlich aufzuzüchten. Ebensowenig gelang es mir auf andere Weise junge freilebende Larven aufzufinden. Infolgedessen bleibt in meinen Untersuchungen vorerst eine Lücke. Vielleicht ermöglicht es mir einmal der Zufall, sie auszufüllen.

c) Nachweis der Plastosomen in den Urgeschlechtszellen des jungen erwachsenen Wurmes.

Das früheste nächstfolgende Stadium (Fig. 11), das ich gegenwärtig zeigen kann, sind Urgeschlechtszellen aus den obersten Teilen der Genitalschläuche eines jungen, aber schon geschlechtsreifen Tieres. Das Lumen der dünnwandigen Röhre ist eng; in ihr sind drei Urgeschlechtszellen getroffen, eine in Kernhöhe,

von den beiden anderen ist jedoch nur ein Protoplasmazipfel angeschnitten. Im Vergleich zu den letztbeschriebenen Urgeschlechtszellen (Fig. 8 und 9) haben sie an Volumen bedeutend zugenommen, sowohl hinsichtlich des Kernes, wie des Protoplasmas. Dieses birgt eine ziemliche Zahl von Plastochondrien, die sich gegenüber denen von Fig. 8 und 9 beträchtlich vermehrt haben.

2. Das Verhalten des Dottermaterials während der Embryonalzeit. — Parallele mit den Plastosomen.

Die öfters erwähnten Vakuolen des Protoplasmas entstehen dadurch, dass die in ihnen befindliche Substanz, die als Nähr- oder Dottermaterial dient, bei der Fixierung, beziehungsweise bei der Nachbehandlung gelöst wird. Wenn man die Blastomeren eines lebenden Embryos betrachtet, so fallen besonders die vielen grünlich glänzenden Körnchen auf, die in verschiedenen Grössen über alle Zellen des Embryos hin verteilt sind. Die Substanz dieser Körnchen scheint ihrem chemischen und physikalischen Verhalten nach Fettkörper zu enthalten. Durch intensive Einwirkung von Osmiumsäure lässt sie sich schwärzen. Ferner ist sie sehr leicht löslich, besonders durch alkoholhaltige Fixierungsflüssigkeiten wie Carnoy, Lenhossék, Golgi. Nach Fixierung in Formol, Regaud usw. tritt dieser Prozess erst bei der Nachbehandlung ein. Der Erwähnung wert scheint mir noch folgende Beobachtung zu sein. Es kommt nämlich sogar bei Fixation mit heisser Bendascher Flüssigkeit vor, dass eine Lösung der Fettkörper eintritt. In solchen Fällen mischt sich das gelöste Fett der im Innern der Eihüllen befindlichen Flüssigkeit bei. Man bekommt dann Eier, deren Inhalt durch die Osmiumverbindung diffus geschwärzt ist. Bei anderen bleibt diese Reaktion dadurch aus, dass sich die Fettkörper aus der Flüssigkeit als unregelmässige krümelige Schollen an der Innenseite der Eischale niederschlagen.

Wie man bei vitaler Beobachtung feststellen kann, geht die Grösse der Dotterelemente nicht über ein gewisses Maß hinaus. Findet man also im fixierten Präparat noch grössere Vakuolen, so sind sie erst postmortal durch Zusammenfliessen entstanden, ein Vorgang, der besonders bei den ersten Furchungsstadien leicht eintritt.

Auf Fig. 13 sind Querschnitte eines kleinen Würmchens abgebildet, das innerhalb seiner Eihüllen aufgerollt ist. Da weder

Kern noch Protoplasmafärbung gemacht ist, sieht man in dem durch die Fixierung leicht gebräunten Protoplasma nichts als die Dotterkörnchen, die infolge der Osmierung scharf hervortreten. Fig. 13, a zeigt einen Schnitt durch das vordere Drittel des Würmchens, b liegt etwas weiter kaudalwärts, auf c ist ungefähr die Region der Urgeschlechtszellen getroffen. Ein Vergleich der verschiedenen Querschnitte lehrt, dass der vordere, also am weitesten entwickelte Teil des Embryos die wenigsten Dotterelemente birgt; kaudalwärts nimmt ihre Masse beständig zu. Am reichsten mit Dottermaterial sind das Mesoderm und besonders die noch nicht differenzierten Zellen des Entoderms versehen, während das Ektoderm viel ärmer an Fettkörperchen ist.

Was die äussere Gestalt der Dotterelemente anlangt, so gibt Fig. 14 einen kleinen Einblick in die Mannigfaltigkeit der auftretenden Formen. Im Gegensatz zu den Plastosomen fällt hierbei die grosse Variationsbreite hinsichtlich der Grösse auf. Sie schwankt zwischen feinsten Körnchen und grossen, ziemlich umfangreichen Tropfen. Man sieht ferner Körperchen, wie sie durch unvollständiges Verschmelzen mehrerer Kugeln gebildet werden können. Dann grosse Tropfen mit verschieden grossen Auswüchsen. Weiterhin bemerkt man umfangreiche Kugeln, auf denen mittels feiner geschwärzter Verbindungsfäden kleine schwarze Körperchen aufsitzen. An anderen Stellen sieht man grössere Kugeln, die durch solche Verbindungsfäden zueinander in Beziehung stehen. Dazwischen liegen unregelmässig konturierte, gezackte Schollen, die sich manchmal sogar zu kleinen fadenartigen Stückchen strecken.

Um dem Einwand zu entgehen, dass hier etwa Verwechslungen mit Plastosomen vorliegen könnten, möchte ich auf diesen Punkt noch mit einigen Worten eingehen. Vor allem gelingt es, die Plastosomen im nämlichen Präparat neben den Dotterelementen färberisch darzustellen; des Kontrastes halber nimmt man dazu am besten eine rote Farbe. Weiterhin kann man im Zweifelsfall die Fettkörperchen durch nachträgliche Behandlung in Thymen auflösen. Schwieriger ist die Unterscheidung von Dotterkörnchen und Plastosomen am lebenden Objekt, da letztere durch die stark glänzenden Dotterkörperchen stark verdeckt werden. Auch ist die geringe Grösse des Embryos für die Erkennung genauer Einzelheiten während des Lebens sehr hinderlich. In günstigen

Fällen kann man aber immerhin feine, weniger stark lichtbrechende Körnchen sehen, welche den Plastosomen entsprechen.

Nach dieser kleinen Abschweifung kehren wir wieder zur Beschreibung der äusseren Form der Dotterelemente zurück. Es ist anzunehmen, dass all die beschriebenen Körperchen hinsichtlich der Entstehung ihrer Form zueinander in bestimmten Beziehungen stehen. Zuerst denkt man wohl an Verschmelzung. Wenn man jedoch erwägt, dass Figuren wie 14, f und f [1] gerade in späteren Embryonalstadien häufig sind und zwar besonders in den vorderen Teilen des Embryos, also gerade da, wo das Dottermaterial am meisten im Schwinden ist, so kommt man zu dem Schlusse, dass die verschiedenen Bilder zu einer Abbaureihe aneinander zu reihen sind. Wir gehen also aus von den grossen schwarzen Körpern, die ursprünglich durch das Verschmelzen vieler kleiner Kugeln entstanden sind. Wenn nun von diesem Nahrungsspeicher etwas zu weiterer Verarbeitung abgegeben werden soll, bildet sich ein kleiner Auswuchs, dessen Stiel dann immer dünner wird. Schliesslich schwindet er ganz und neben der grossen Kugel liegt nunmehr ein kleines Tröpfchen. Je nachdem nun der Bedarf an Material stärker oder schwächer ist, schnüren sich grössere oder kleinere Teilchen ab. Ich glaube, dass auf diese Weise alle Figuren, wie 14, f [1] zu erklären sind. Hernach scheint sich das Material zum grossen Teil so zu verändern, dass seine Konsistenz fester wird. Wenigstens ist dies für die gezackten Körnchen anzunehmen, deren Form bei leicht flüssiger Konstitution nicht zu erklären wäre. An diesen in ihrer physikalischen Beschaffenheit veränderten Schollen setzt sich dann noch weiterhin die abbauende Tätigkeit der Zellen fort, welche wohl durch lytische Enzyme der materialbedürftigen Zellen ausgeübt wird. Derart wird die Substanz immer weiter aufgebraucht, bis auch der noch als feines Körperchen sichtbare Rest verschwindet.

Man könnte nun dagegen einwenden, dass die grossen Tropfen erst infolge der Fixierung durch Verschmelzung einzelner Granula hervorgegangen sind, und dass die noch vorhandenen kleinen Körperchen dem wirklichen Zustande entsprechen. Die Beobachtung des lebenden Embryos widerlegt diesen Einwurf. Dann könnte man vermuten, dass die zackigen Körperchen artifiziell durch die lösende Einwirkung verschiedener bis zur Einbettung nötiger Flüssigkeiten veranlasst werden. Durch entsprechende

Vorsicht bei der Herstellung der Präparate lässt sich dem leicht begegnen. Zu diesem Zwecke setzte ich dem 70% Alkohol etwas Natriumsulfid zu, wodurch nach den Angaben Heidenhains eine Lösung des osmierten Fettes vermieden wird. Ferner habe ich statt Xylol und dergleichen lösender Mittel Cedernholzöl genommen. (Auch zum Eindecken an Stelle des Kanadabalsams.) Derartige Kontrollpräparate boten das gleiche Bild.

Die eben besprochenen Einlagerungen des embryonalen Protoplasmas, die mit dem Dotter anderer Tierarten zu vergleichen sind, geben Veranlassung, noch auf die Frage einzugehen, ob sich zwischen Dottermaterial und Plastosomen in den Embryonalzellen irgendwelche Beziehungen aufdecken lassen. Die darauf hinzielenden Untersuchungen liessen jedoch keinen direkten Zusammenhang feststellen. Beide Gebilde bestehen im Protoplasma der Embryonalzellen nur nebeneinander. Es fehlen hier eben jene Reize (z. B. ausgiebigste Nahrungszufuhr), welche in der heranwachsenden Oocyte die Beteiligung der Plastosomen beim Entstehen des Dottermaterials veranlassen. Dass sie aber hierbei von Bedeutung sind, ist durch Arbeiten von van der Stricht (1904—1909), van Durme (1907) und Mlle. Loyez (1909), wenn auch für andere Tierarten, festgestellt.

Nicht unmöglich wäre es dagegen, dass ein Teil des Materials, das beim Abbau der Dotterkörner frei wird, für das Wachstum der Plastosomen Verwendung findet. Denn da der Embryo durch seine undurchdringliche Eihülle von der Aussenwelt abgeschnitten ist, muss er seinen ganzen Aufbau aus den in ihm liegenden Mitteln bestreiten. Der Dotter hat also hier ebenso wie sonst seine bekannte Funktion auszuüben: nämlich als Nahrungsspeicher zu dienen. Von dem Zeitpunkte an, wo das befruchtete Ei von einer Schale umschlossen wird, ist seine Massenzunahme beendet. Zur Zeit des Vorkernstadiums scheinen mir noch einige chemische Umwandlungen an dem Dottermaterial stattzufinden.

Wie liegt die Sache nun aber bei den Plastosomen? Stellen sie vielleicht ebenso wie die Dotterelemente einfaches Speicherungsmaterial dar, das dann nach und nach zum Aufbau des Körpers verbraucht wird? In diesem Falle würde aber zwischen beiden Formen kein prinzipieller, sondern nur ein rein chemischer Unterschied bestehen. (Dass keine Verschmelzungsvorgänge wie bei Fett stattfinden, könnte ja durch die physikalische Beschaffenheit

der andersartigen chemischen Substanz bedingt sein.) Dann müssten ferner analog den bei dem Dotter beobachteten Vorgängen auch die oben beschriebenen und als Teilungs- und Vermehrungserscheinungen gedeuteten Bilder ebenso als morphologischer Ausdruck des Abbaues aufgefasst werden. Gegen diese Vorstellung sprechen jedoch die Befunde. Denn dann müsste sich angesichts der Häufigkeit der in Betracht kommenden Vorgänge entweder die Grösse der Körnchen so rasch und stark vermindern, dass sie auf Stadien wie Fig. 3 und 4 viel feiner aussehen würden, oder sie müssten an Zahl stark abnehmen, was bis zu den erwähnten Stadien ebenfalls nicht der Fall ist.

Dass die Plastosomen einfaches Reservematerial darstellen, dem widersprechen auch die Beobachtungen an anderem Material, wo eine Vermehrung ganz unzweifelhaft ist. Es ist allerdings nicht sicher erwiesen, ob diese Vermehrung in den Plastosomen selbst liegt, oder ob die Plastosomen nur der Speicherungsort der durch die Tätigkeit des Protoplasmas hervorgebrachten Substanzen sind. Während jedoch bei Fett eine Zunahme in der Weise erfolgt, dass im Protoplasma (oft durch Vermittlung von Plastochondrien) kleine Tröpfchen auftreten und zusammenfliessen, erfolgt bei den Plastosomen die Vermehrung entweder durch Teilung und darauf folgendes Anwachsen eines Körnchens oder durch Längenwachstum eines Fadens, der dann in einzelne Körner segmentiert wird. Neuerdings hat Hoven (1912) sogar eine Vermehrung durch Längsspaltung der Fäden festgestellt. Diese Vorgänge sind von den beim Fett zu beobachtenden prinzipiell so verschieden, dass wir mehr und mehr zu der Annahme einer im Plastosom liegenden Tätigkeit gedrängt werden. Damit ist jedoch noch nicht bewiesen, dass ein Plastosom als Elementarorganismus zu betrachten ist, da eine sogenannte vitale Eigenschaft immer noch durch die Wechselwirkung mit anderen in der Zelle vorhandenen Körperchen bedingt sein kann.

Infolge der äusseren Umstände, in denen sich das Würmchen befindet (Unmöglichkeit einer Nahrungszufuhr von aussen usw.), ist jedoch der Vermehrung der Plastosomen naturgemäss ein Ziel gesteckt, wodurch obige Feststellung eine gewisse Einschränkung erfährt. Während in den frühen Embryonalstadien von Ascaris eine Vermehrung der Plastosomen sicher ist, ist sie in der späteren Entwicklungszeit beschränkt, ja mit der Zeit macht sich

sogar eine Abnahme geltend. Sie ist am stärksten in den vordersten Teilen des Würmchens. In den ältesten Stadien ist sie so stark, dass es technisch sehr schwierig ist, noch Plastosomen nachzuweisen. Diese Vorgänge finden in folgendem aber ihre Erklärung. Zum Teil beruht es auf einem rein äusserlichen Grunde, nämlich darauf, dass wir an der Grenze des Auflösungsvermögens unserer optischen Hilfsmittel angelangt sind. Mit der Entwicklung des Embryos werden die Zellen immer kleiner und kleiner und ebenso wie sich die Kerne mit ihren Chromatinpartikelchen verkleinern, ebenso verkleinert sich das Protoplasma mit seinen Plastosomen. Damit wird es immer schwerer, die Teilchen mit dem Mikroskop einzeln zu erkennen. Dass dies tatsächlich der Fall ist, wird dadurch bewiesen, dass man durch Vorsetzen von Filtern, durch welche das Auflösungsvermögen gesteigert wird, noch Dinge sehen kann, welche man bei gewöhnlichem Licht nicht erkennt.

Der zweite Grund ist folgender. Kurz nach den ersten Anzeichen einer Verminderung der Plastosomen des Ektoderms bildet sich an der Oberfläche der Zellen eine feine Cuticula. Bald darauf — die Zahl der Plastosomen nimmt noch mehr ab — treten die ersten sichtbaren fibrillären Bildungen in der Cutis auf. Etwas später zeigen sich solche Elemente auch in den vorderen Abschnitten des Entoderms. Damit stimmt wieder überein, dass die Zahl der Plastosomen zuerst im Ektoderm und dann im Entoderm eine Verminderung erleidet. Ein Rest bleibt erhalten. Da aber oben gezeigt wurde, dass sich die Plastosomen an dem Hervorbringen der Fibrillen beteiligen, so ist die Abnahme ihrer Zahl wohlerklärt.

Damit kommen wir am Ende dieses Kapitels zu dem Schluss, dass die Plastosomen, wie ein Vergleich mit dem Dottermaterial zeigt, nicht als einfaches Nährmaterial, sondern als höherwertige tätige Bildungssubstanz zu betrachten sind. Bei dem hier zur Untersuchung dienenden Tiere zeigt sich ferner, dass sie beim Hervorbringen von Differenzierungsprodukten in stärkerem Maße aufgebraucht werden, als es bei Embryonen der Fall ist, die durch grosse Massen von Dotter oder durch unmittelbare Verbindung mit dem mütterlichen Körper reichlicher mit Baumaterial versehen sind. Übrigens hat Meves auch in den Fibroblasten des Hühnchenembryos nach der Fibrillenbildung eine Abnahme

der Plastosomen festgestellt, die hier jedoch geringer ist, als bei Ascaris.

IV. Allgemeiner Teil.

1. Beziehungen zu einigen Literaturangaben.

In diesem Kapitel möchte ich mich zuerst mit zwei in letzter Zeit erschienenen Arbeiten befassen, deren Resultate mit den vorliegenden Untersuchungen nicht völlig in Einklang zu bringen sind. Die eine ist von Moroff (1912), die andere von Retzius (1911). Da sich die Forschungen Moroffs mit Crustaceen befassen, so konnten die bestehenden Differenzen allenfalls dadurch erklärt werden, dass sie an einer anderen Tierklasse gewonnen sind. Moroff verallgemeinert jedoch seine Resultate so sehr, dass er sie nicht nur auf Wirbellose, sondern auch auf Wirbeltiere ausdehnt. Daher möchte ich zeigen, dass die Folgerungen Moroffs nicht einmal bei Avertebraten, geschweige denn bei Vertebraten allgemeine Gültigkeit beanspruchen können.

Zuerst noch eine Bemerkung hinsichtlich der Nomenklatur des Autors. Der Verfasser vereinigt alles, was bisher als Chromidien, Trophospongien, Plasmosomen, Mitochondrien usw. beschrieben ist, unter dem Namen Chromidien. Es ist jedoch schon verschiedentlich geeigt worden, dass das ganz differente Dinge sind, abgesehen davon, dass man sich an Präparaten auch selbst davon überzeugen kann. Ferner zieht Moroff Arbeiten von Goldschmidt (1904), Popoff und Wassilieff (1907) zur Stütze seiner Theorien heran; es ist aber nachgewiesen, dass Goldschmidt in der betreffenden Arbeit Glykogen und Netzstrukturen für Chromidien angesehen hat (Jörgensen [1910], v. Kemnitz [1912], Bilek [1904, 1910], Vejdovsky [1904]); Wassilieff ferner ist schon längst von Duesberg (1911) schlagend widerlegt. Damit soll jedoch nicht behauptet werden, dass ein Übertritt von Chromatin ins Protoplasma der Zelle nicht vorkommt; ich glaube vielmehr, dass niemand einen Stoffaustausch zwischen beiden leugnen wird, aber gegen die Identifizierung von Chromidien einerseits und Mitochondrien andererseits (Chondriosomen, Plastosomen) ist Stellung zu nehmen. Denn weder von seiten Moroffs, noch von seiten irgend eines anderen Forschers ist nachgewiesen, dass sie dasselbe sind oder sich ineinander umwandeln. Da sich jedoch Moroff bei der Darlegung seiner Theorie auf einige Arbeiten stützt, soll im folgenden der Nach-

weis versucht werden, dass die Interpretation derselben seitens des geschätzten Autors nicht ganz zutreffend ist. Günthert (1910) (Moroff zitiert den Namen des Autors nicht richtig) hat zwar den Austritt von Chromatin in das Protoplasma — also das Vorkommen von Chromidien — bewiesen, ferner hat er gezeigt, dass sich diese Partikelchen allmählich mit Protoplasmafarben tingieren, was wahrscheinlich als allmählicher Zerfall zu deuten ist, aber dass sie sich in Mitochondrien verwandeln, wie Moroff behauptet, davon spricht Günthert selbst nicht. Von den Arbeiten Popoffs kommen für die Moroffsche Auffassung die von 1907, 1908 und 1909 in Betracht. Die erstgenannte ist von Duesberg (1911) gründlich widerlegt worden. Die 1910 veröffentlichte ist mit unzureichender Technik ausgeführt und in keiner Beziehung dafür beweisend, dass sich Chromidien in Mitochondrien umwandeln. In der Arbeit von 1908 beschäftigt sich Popoff hauptsächlich mit den Fragen der Kernplasmarelation und kommt nur nebenbei auf die Dotterbildung durch Chromidien zu sprechen, wobei er Chromidien und Mitochondrien in einen Topf zusammenwirft, ohne sich durch entsprechende Technik über die Substanzen genauer zu informieren. Auch auf die Echinidenarbeit Schaxels (1910) kann sich Moroff nicht zur Stütze seiner Hypothesen berufen. Denn Schaxel drückt sich hinsichtlich einer Identifizierung von Kernemissum (also Chromidien) und Mitochondrien sehr vorsichtig aus. Er schreibt: „Ich habe in der vorliegenden Arbeit Ausdrücke wie Mitochondrien, Chondriosomen und dergleichen überhaupt vermieden, obgleich natürlich die fädig erscheinenden Verbreitungsstadien des Plasmachromatins, die Chromatinkondensatoren der Reifeier und der Blastomeren und die extranukleären Chromatidenherde der Organbildung eine Bezugnahme auf die als autonom betrachteten Zellgebilde nahelegen und sich zugleich von den karyogenen Kinetochromidien ableiten.“ Diese etwas unbestimmt gehaltene Äusserung erfuhr in einer Arbeit des nächsten Jahres eine ganz andere Fassung. Schaxel (1911) beschäftigte sich in seinem Bestreben, den Meinungsdifferenzen auf den Grund zu gehen, eingehender mit der in Betracht kommenden Technik und urteilte dann folgendermassen: „Aus ihrer (gemeint sind die Chondriosomen) Gegenwärtigkeit bei allen Zuständen der Zelle (Ruhe und Teilung) und ihrer Anteilnahme an der Ausarbeitung der aus Protoplasma-

derivaten bestehenden Differenzierungen ist zu schliessen, dass sie einen dem Cytoplasma eigentümlichen Bestandteil von wahrscheinlich fettiger Natur darstellen, der in Präparaten überall da erscheint, wo ihn das angewandte technische Verfahren nicht zur Lösung gebracht hat." Und ferner am Schlusse der Arbeit: „Was schliesslich die Frage der Identifikation der Chondriosomen mit dem extranukleären Chromatin betrifft, so ist sie entschieden zu verneinen." Daraus ergibt sich, dass eine Identifizierung von Chromidien und Mitochondrien der Tatsachen entbehrt.

Moroff pflichtet auch van Mollé (1910) bei, der den Kragen der Wirbeltierspermien auf eine Faltung der Kernoberfläche zurückleitet. Demgegenüber sind jedoch die Untersuchungen von Meves (1899) sehr zu beachten, die von so vielen Nachuntersuchern bestätigt wurden; ferner hat Duesberg in einem ausführlichen Anhang seiner „Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules seminales" (1911) gegen die Präparate und die Ansicht van Mollés Einsprüche erhoben, deren völlige Widerlegung van Mollé (1911) nicht glückte.

Moroff hegt weiterhin die Ansicht, dass bei der Vererbung einzig und allein der Kern eine Rolle spiele. Dabei umgeht er die Tatsache, dass auch Plastosomen an der Befruchtung teilnehmen, in folgender Weise. Er schreibt: „Möglicherweise könnten die Chondriosomen (Chromidien) die ihnen von Meves zugeschriebenen Eigenschaften wohl besitzen. Wenn man aber in Betracht zieht, dass sie dem Kern ihren Ursprung zu verdanken haben, so ist damit die dem Kern von Hertwig und Strassburger zugeschriebene Eigenschaft als Vererbungsträger in keiner Weise tangiert." Da der werte Autor jedoch den ersten Teil des letzten Satzes, wie wir oben gesehen haben, nicht bewiesen hat, so hat sein Ausspruch nur den Wert einer unbewiesenen Hypothese.

Durch Meves (1910) und Held (1912), deren Arbeiten ich bestätigen kann, wurde gezeigt, dass die Plastosomen des Spermiums in der Eizelle bestehen bleiben, sich dort verteilen und sich dort vermehren. Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, dass diese einzelnen Granula im weiteren Verlauf der Entwicklung auf die Furchungszellen verteilt werden, wo sie sich vermehren und erhalten. Sie haben es also nicht nötig, erst aus dem Kern auszutreten. Man könnte nun einwenden, dass gerade Ascaris ein günstiges Beispiel dafür böte, dass das Chromatin

zu den Plastosomen in genetischem Zusammenhang stünde. Wie wir gesehen haben, besitzen nämlich die somatischen Zellen, also diejenigen, deren Chromatin diminuiert wurde, mehr Plastosomen als die Geschlechtszellen. Den Anlass zu diesem Reichtum der Somazellen könnte man in dem abgestossenen Chromatin suchen. Dass dies nicht zutrifft, geht daraus hervor, dass die Vermehrung der Plastosomen in den somatischen Embryonalzellen lange vor dem Abstossen der Chromatinbrocken beginnt. Ferner kann man diese vollkommen isoliert im Protoplasma der Zelle ohne irgendwelche nachweisbaren Beziehungen zu den Plastosomen finden. Wenn sie wirklich für deren Entstehen in Betracht kämen, müsste man doch mehr oder weniger starke Anhäufungen in der Peripherie der Brocken sehen. Davon lässt sich jedoch nichts beobachten.

Damit ist freilich nicht ausgeschlossen, dass die Stoffe für die Zelle von einem gewissen Wert sein können; sicher festgestellt ist es zwar ebensowenig wie das Gegenteil. Das aber lässt sich auf jeden Fall sagen, dass die Plastosomen auf sie nicht zurückzuführen sind, sondern bereits vorher im Protoplasma bestehen und sich hier vermehren.

Nun könnte man sich vom Standpunkte Moroffs aus allenfalls noch auf Schaxel berufen, den Moroff auch gegenüber den Resultaten und Schlussfolgerungen Godlewskis (1906), die absolut gegen ihn sprechen, heranzieht. Der geschätzte Forscher könnte hier ebenso wie im Hinblick auf Godlewski geltend machen, „dass Schaxel an Echinodermeneiern gezeigt hat, dass während der ganzen Furchungsperiode die von dem Ei mitgebrachten Chromidien sich zuerst an dem physiologischen Prozess der Zelle betätigen und erst beim Beginn der Organbildung neue Chromidien aus den Kernen austreten, die nun im Plasma zur Aktivierung kommen“ (zitiert nach Moroff). Aber auch dieser Einwand würde daran scheitern, dass Schaxel selbst gezeigt hat, dass Chromidien und Mitochondrien nicht identisch sind. Wenn Schaxel (1911) aber geltend macht: „Gerade weil ich mich selbst überzeugt habe, dass die Körner und Fädchen des Bendaschen und Altmannschen Verfahrens einen Bestandteil eines jeden Cytoplasmas fast ausmachen, scheint es mir nicht verwunderlich, dass sie da, wo einiges Plasma den Spermakern begleitet, auch vorkommen“, so ist das kein schwerwiegender Einwand gegen die Teilnahme der Plastosomen an der Vererbung.

Denn diesen Satz könnte man schliesslich gerade so gut umgekehrt auf den Kern anwenden.

Die zweite Arbeit ist von Retzius (1911). In ihr erhebt der hervorragende Forscher schwere Angriffe gegen die Lehre der Mitochondrien, die um so schwerwiegender sind, als sie aus seiner Feder stammen. Nun hat zwar Meves (1912) einen grossen Teil seiner Einwände widerlegt; da sich aber meine Untersuchungen zum Teil mit dem gleichen Material wie die Retziusschen beschäftigen, bin ich gezwungen, ebenfalls Stellung zu nehmen. Retzius legt bei seinen Untersuchungen das Hauptgewicht auf ein feines Fadenwerk, das er nach bestimmten Fixierungen im Protoplasma der Ascariseier und Blastomeren vorfindet. Er nimmt es als wirklich bestehend an und begründet dies damit, dass er es bei den Eiern anderer Tiere ebenfalls gesehen hat und dass er die Objekte ganz frisch und lebenswarm in die Fixierungsflüssigkeit gebracht hat. Dies hindert jedoch die Entstehung von Kunstprodukten nicht und ist infolgedessen kein Beweis für ihre wirkliche Existenz. Ich habe nun nach Carnoy-Fixierung, welche auch Retzius zu ihrer Darstellung verwandte, ebenfalls feine Fäden im Protoplasma bekommen. Nach den Erfahrungen aber, die ich mit dieser Flüssigkeit an anderen günstigeren Objekten gemacht habe, besitzt sie grosse Neigung Eiweisskörper in fädiger Form auszufällen. Auch bei Anwendung der Flemmingschen Flüssigkeit erhielt ich in manchen Fällen feine Fädchen, welche jedoch mit den mit Carnoy erhaltenen nicht übereinstimmen. Dies zusammen mit der Unmöglichkeit, die Fädchen in lebendem Zustand nachzuweisen. zeigt, dass der Beweis ihrer wirklichen Existenz noch nicht erbracht ist. Fäden wie sie Retzius in den Zellen der Gastrulastadien auf Taf. X, Fig. 5—8 abbildet, konnte ich in analogen Stadien nicht vorfinden. Ich glaube, dass Retzius die genannten Abbildungen auch nur als Schemata aufgefasst haben will, denn sonst müssten ja auch die Fettvakuolen in die Zelleneingezeichnet sein, da alle Embryonalzellen in den fraglichen Stadien Fetttröpfchen (Dottermaterial) enthalten, die bei der vom Autor angewandten Technik gelöst sein müssten. Eine Identifizierung der Plastosomen und des Retziusschen Mitoms ist nicht möglich. Existiert letzteres, so ist es, wie noch manches andere, neben den Plastosomen in der Zelle anwesend.

Da ferner Retzius zur Darstellung der Plastosomen eine von den gewöhnlichen Methoden abweichende Technik benutzte, war es nötig, die von ihm gebrauchten Fixierungsflüssigkeiten zur Kontrolle zu gebrauchen. In Betracht kamen daher Fixierungen in Carnoy, Pikrinessigsäure und Sublimat; da sich hinsichtlich der letzteren Flüssigkeit keine genaueren Angaben vorfinden, benützte ich gewöhnliche Sublimatlösung mit 5 % Eisessigzusatz und das von Lenhossék empfohlene Gemisch. Letzteres gab bessere Resultate als ersteres. Bei sämtlichen Flüssigkeiten zeigte es sich aber, dass nur ein Teil der Plastosomen erhalten war. Diese waren zum Teil noch etwas gequollen und verschwommen konturiert und klebten mehr oder weniger deutlich an fädigen Strukturen des Protoplasmas. Diese teilweise Auflösung der Plastosomen trat bei Fixierung in Carnoy (3 : 1) schon nach einstündiger Einwirkungsdauer ein. Wie ungünstig die Methode für Darstellung der Plastosomen ist, zeigen auch die oben erwähnten Retziusschen Abbildungen (Taf. X, Fig. 5—8). Denn wie man aus meinen Figuren sehen kann, ist in den in Frage kommenden Zellen eine erhebliche Menge von Plastosomen enthalten, von denen man auf den Bildern von Retzius nichts sieht. Es lässt sich infolgedessen sagen, dass die von Retzius gebrauchten Methoden nicht sehr geeignet sind, um die von anderen Forschern über Plastosomen angegebenen Resultate nachzuprüfen.

Da wir aber gerade nach Carnoy-Fixierung ein Ankleben von Körnchen an Fäden beobachtet haben, sind auch die von Retzius aufgestellten Beziehungen zwischen Protoplasmafäden und Plastosomen nicht bewiesen. Dass die Plastosomen innerhalb dieser Fäden liegen, erscheint mir nach Kenntnis der Bewegungen, welche die Plastosomen während der Zellteilungsvorgänge ausführen, unwahrscheinlich. Auch die Beobachtungen von Terni (1912), Fauré-Fremiet (1910) u. a. sprechen dagegen. Ganz unerklärlich wären die schlängelnden Bewegungen, welche Lewitzky (1910, 1911) an den Plastokonten (Chondriokonten) lebender Pflanzenzellen wahrnehmen konnte.

Aus all dem zusammen mit den Widerlegungen von seiten Meves' ist zu sehen, dass die Angriffe des hochgeschätzten Forschers unbegründet sind. Retzius wendet sich ferner gegen das Aufstellen griechischer Bezeichnungen wie „Mitochondrien, Chondriosomen und Plastosomen". Man kann dagegen freilich

den Vorwurf des Mystizismus erheben und es wäre sicher vorzuziehen, dafür chemische Bezeichnungen zu gebrauchen, was zurzeit jedoch nicht möglich ist. Wenn wir ferner warten wollten, bis ein Bestandteil der Zelle ganz genau umgrenzt ist und erforscht ist, dann dürften wir auch Namen wie Chromatin, Linin usw. noch nicht gebrauchen. Es ist also sicher zu rechtfertigen, wenn für die Plastosomen, die durch die Forschung der letzten Jahre doch ziemlich weit von anderen Formbestandteilen der Zelle abgegrenzt worden sind, eigene Bezeichnungen gebraucht werden. Dass es aber unmöglich ist, an den alten Terminis von Flemming und van Beneden festzuhalten, hat Meves ausführlich gezeigt.

2. Beziehungen zur Vererbungslehre.

Das Thema der vorliegenden Untersuchungen bringt es mit sich, auch die Beziehungen der gewonnenen Resultate zur Vererbungslehre zu betrachten. Da aber die Untersuchung einer Tierart kaum ausreicht, um weittragende Schlüsse zu ziehen, will ich mich hier vorerst nur auf das Allernotwendigste beschränken.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Plastosomen, die in der befruchteten Eizelle vorhanden sind und aus weiblichen und männlichen Elementen bestehen, sich während der ganzen Dauer des Embryonallebens erhalten, sich auf die verschiedenen Zellen des Embryos verteilen, sich dort vermehren und an der Entstehung von Differenzierungsprodukten der Zelle regsten Anteil nehmen. Weiterhin bilden sie einen integrierenden Bestandteil der Urgeschlechtszellen.

Dadurch werden einige Thesen Vejdovskys (1911) widerlegt, nämlich erstens, dass die Plastosomen des Spermiums gleich nach der Befruchtung der Resorption anheimfallen, dass die Mitochondrien des Kopfteils keine plasmatischen Vererbungsträger darstellen können, und weiterhin, dass sie erst aus dem Protoplasma der sich entwickelnden Keimzellen neugebildet werden. Ferner wird bewiesen, dass ihnen hinsichtlich ihrer Rolle im Zellleben eine hohe Bedeutung zukommen muss und ferner, dass sie wenigstens bei Ascaris als hochwertige Bestandteile der elterlichen Keimzellen für die Vererbung in Betracht gezogen werden müssen. Die Theorien von O. Hertwig, Strassburger, Goldschmidt, die den Kern als alleinige Erbmasse betrachten, bedürfen also, zum mindesten hinsichtlich Ascaris, einer Erweiterung.

Ein Haupteinwand, der gegen die Wichtigkeit der Plastosomen hinsichtlich der Vererbung ins Feld geführt wird, besteht in dem Hinweis, wie wenig sie den Vorstellungen entsprechen, die sich allmählich über die Erbmasse des Chromatins gebildet haben. Es scheint mir jedoch dies nur zu zeigen, dass wir uns bezüglich der Bedeutung der Plastosomen für die Vererbung neue Begriffe schaffen müssen. Es ist sicher, dass dies erst allmählich ermöglicht werden wird, ebenso wie die Idee der Reduktion, Äquivalenz usw. erst auf Grund der Entdeckung vieler Einzelheiten entstanden ist. Und auch diese Probleme stehen noch in ihrer Entwicklung, insofern man vielleicht mit der Zeit mehr als bisher noch verhältnismässig wenig erforschte Einflüsse, wie Einwirkung der Umgebung, Massenverteilung im Innern der Zelle, Nahrungsverhältnisse der einzelnen Zellen usw. beachten wird.

Daraus leitet sich die dringende Notwendigkeit ab, weitere Beobachtungen über das Verhalten der Plastosomen während der Befruchtung bei anderen Objekten anzustellen. Denn bis jetzt sind die Verhältnisse nur bei zwei Tieren genau erforscht, bei Ascaris und bei Echiniden, und beide zeigen auffallende Divergenzen. Darin beruht aber ein gewaltiger Unterschied gegenüber dem Chromatin — und den Theorien, die wir uns darüber gebildet haben — fast mehr noch als in dem ungleichen Massenverhältnis zwischen männlicher und weiblicher Plastosomenmenge. Aber vielleicht liegen gerade hierin wichtige Vorgänge verborgen, deren Deutung und Wertung erst durch eine Reihe von weiteren Untersuchungen ermöglicht wird. Dass sich aber die Annahme einer Mitwirkung von extranucleären Substanzen bei der Vererbung mit den über das Chromatin gewonnenen Resultaten in Einklang bringen lässt, dafür hat erst vor kurzem ein Forscher wie Rückert (1911) das Wort ergriffen. So habe ich die Ansicht, dass auch durch die Versuche von O. und G. Hertwig (1911), die sicher von hohem Interesse sind, die Frage nicht endgültig entschieden ist.

Aus den Untersuchungen geht weiter hervor, dass die Entstehung von Plastosomen an schon vorhandene gebunden ist; oder ins Negative übertragen: ebensowenig wie in einer kernlosen Masse ohne weiteres sich Chromatin entwickeln kann, ebensowenig scheinen in einem plastosomenlosen Protoplasma plötzlich Plastosomen auftreten zu können. Ebenso wie sich also im Grunde genommen alle Kerne des erwachsenen Organismus auf die Vor-

kerne der befruchteten Eizelle zurückleiten lassen — wenn auch der Kerninhalt einer späteren Somazelle natürlich von anderer Zusammensetzung ist als der der Urkerne — ebenso bei den Plastosomen. Ich neige hiermit in gewissem Sinne wie Held zu dem Satze Altmanns: „Omne granulum e granulo."

Von Interesse sind weiterhin die Beziehungen, welche sich aus den vorliegenden Untersuchungen zur Lehre des Determinismus ergeben. Gerade Ascaris diente in dieser Hinsicht schon zu eingehenden Erörterungen. So hat sich v. zur Strassen (1906) mit der Frage beschäftigt, um zu folgendem Schlusse zu kommen: „Es zeigte sich, dass die Organisation des Plasmakörpers — sei sie nun der kausale Untergrund der gesamten Differenzierung oder nur ein System von Richtungspunkten für den Bedarf der erbungleichen Zerlegung der Kerne — jedenfalls nicht von Anfang vorhanden ist, sondern erst nach der Befruchtung ins Leben tritt. Und da bei doppelter Befruchtung doppelte Organisation entsteht, so ist nicht zweifelhaft, dass der aus Kernmaterial und Zentren formierte „Furchungskern" hierbei eine fundamentalere Rolle spielt, als etwa — woran man denken könnte — die eines zeitlich auslösenden Reizes. Vielmehr steht die Bildung der Organisation auch räumlich und konfiguratorisch in voller Abhängigkeit vom Furchungskerne. Demnach wird wohl im Furchungskern selber, vielleicht in seinem Chromatin, schon eine komplizierte Mannigfaltigkeit: eine geordnete kausale Vorbereitung der plasmatischen Organisation enthalten sein. Wenn aber der Kern eine Komplikation besitzt, die derjenigen des ganzen Entwicklungslaufes entspricht, so ist offenbar die einfachste Vorstellung die, dass diese nucleäre Mannigfaltigkeit vermöge erbungleicher Zerlegung die Leitung des Determinationsprozesses übernimmt." Danach spielt also beim Determinationsprozess der Kern, genauer das Chromatin, die Hauptrolle. Dieses auf Grund von Beobachtungen und geistreichen Deduktionen gewonnene Resultat verliert jedoch an Beweiskraft, seit es gelingt nachzuweisen, dass nicht der Kern des Spermiums allein bei der Befruchtung tätig ist. Infolgedessen dringt also bei Doppelbefruchtung nicht nur die doppelte Masse des Chromatins in die Eizelle ein. Der Schluss ist also nicht mehr zwingend, denn man könnte gerade so gut auch die Plastosomen allein oder zusammen mit dem Kern dafür verantwortlich machen. Nun kommt neuerdings Boveri (1910) zu folgendem Resultat:

„Alles, was über die Wertigkeit der primären Blastomeren bei abnormer Furchung ermittelt worden ist, lässt sich durch die Annahme sehr einfacher Plasmadifferenzen erklären, wogegen die Hypothese einer differenzierenden Wirkung des Kernes in jeder Form auf unüberwindliche Schwierigkeiten stösst."

Damit wird eine leitende Rolle des Kernes im Sinne der Determination unwahrscheinlich. Da aber nun bei Doppelbefruchtung nach v. zur Strassen doppelte Organisation entsteht, so ist zu untersuchen, ob sie vielleicht in dem zweiten mit eingeführten Bestandteil lokalisiert sein kann, also in den Plastosomen des Spermiums, zu denen dann noch die der Eizelle hinzukommen, in welch beiden Meves die Erbsubstanz des Protoplasmas annimmt. Da ferner von verschiedenen Forschern experimentell gewonnene Resultate so gedeutet wurden, dass in bestimmten Teilen des Protoplasmas bestimmte „Organplasmen" vorhanden sind, so tritt auch noch die Frage hinzu, ob man vielleicht in den Plastosomen ihre Verkörperung zu sehen hat.

Wenn man aber beobachtet, wie diese Körperchen aus dem Spermium durch die ganze Eizelle hingestreut werden, wie männliche und weibliche in mannigfaltigen Bewegungen sich miteinander mischen, welche Ortsveränderungen sie bei der Mitose durchmachen, ist es sehr unwahrscheinlich, dass in ihnen determinierende Eigenschaften im Sinne der oben erwähnten Theorie lokalisiert sein können. Denn es ist wohl dem Zufall anheimgestellt, welche Körnchen später in eine Ektoderm-, welche in eine Entodermzelle geraten.

Da aber nun weder für das Chromatin noch für die Plastosomen ein einwandfreier Beweis geführt ist, bestünde nur noch die Möglichkeit, dass noch eine andere Substanz an der Befruchtung teilnimmt. (Die Centren kommen hier wohl nicht in Betracht.) Oder aber wir kommen, wenn wir den Boden des Nachgewiesenen nicht verlassen wollen, zu dem Schlusse, dass die Theorie der Determination in ihrer extremen Fassung nicht haltbar ist, wofür besonders Greil (1912) vor kurzem eingetreten ist. Mit der Verneinung determinierender Eigenschaften ist jedoch die Bedeutung der Plastosomen für die Vererbung durchaus nicht in Frage gestellt.

Wenn man nun die über die Plastosomen gewonnenen Ergebnisse überblickt, so scheint es wahrscheinlich, dass sie in der

befruchteten Eizelle und den frühen Blastomeren vollkommen undifferenzierte Körperchen darstellen. Nun kann man aber beobachten, dass sich die Plastosomen selbst bei ein und derselben Tierart der Fixierung und besonders der Färbung gegenüber different verhalten, je nachdem man beispielsweise die Plastosomen einer Oocyte, einer Darmzelle oder einer Muskelzelle darstellen will. Daraus ziehe ich den Schluss, dass sich der indifferente Zustand, der in der ersten Embryonalzeit besteht, ändert, sobald sich die Zelle nach einer bestimmten Richtung hin ausentwickelt. In indifferent gebliebenen Zellen dagegen wird man auch noch in späteren Zeiten indifferent gebliebene Plastosomen antreffen. Eine Stütze für diese Theorie erblicke ich in den Färbungsversuchen von Regaud (1908, 1911).

V. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Hauptergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich folgendermassen zusammenfassen: Die Plastosomen der befruchteten Eizelle, welche sich aus jenen der männlichen und jenen der weiblichen Keimzelle zusammensetzen, bleiben im Laufe der weiteren Entwicklung erhalten. Sie vermehren sich fernerhin und stellen so gewissermassen die matrix der späteren dar. Die Plastosomen sind auch für die Vererbung in Betracht zu ziehen.

Ein Vergleich mit dem Dottermaterial zeigt, dass die Plastosomen nicht als einfaches Speicherungsmaterial aufzufassen sind, sondern sich aktiv an den Lebensprozessen beteiligen.

Ihr Verhalten in den Propagationszellen und embryonalen Urgeschlechtszellen einerseits und den Somazellen andererseits zeigt insofern Unterschiede, als sie sich in ersteren vorerst nicht oder nur in geringem Grade vermehren. Sie sind jedoch ständig nachweisbar. In den Urgeschlechtszellen beginnt ihre Vermehrung erst dann, wenn deren Funktion als tätige Keimzelle einsetzt.

Die Vermehrung der einzelnen Plastosomen erfolgt beim vorliegenden Objekt durch Anwachsen und Teilen eines Körperchens unter verschiedenen Variationen. Ein Vergleich des Verhaltens der Plastosomen während der Mitose im vorliegenden Falle und in anderen schon beschriebenen Fällen zeigt, dass es für jede bestimmte Zellart charakteristisch ist.

Hinsichtlich der Urgeschlechtszellen hat sich ergeben, dass nach der Teilung der Stammzelle IV. Ordnung in zwei Ur-

geschlechtszellen die zweizellige Genitalanlage bis zum Ende des Embryonallebens erhalten bleibt. Während dieser Zeit tritt jedoch eine allmähliche Grössenabnahme ein, welche dem Anscheine nach auf Flüssigkeitsabgabe beruht.

Der Abbau der Dotterelemente findet in Form kleiner Tröpfchen statt. Dabei tritt auch eine Veränderung der Substanz in physikalischer Hinsicht auf.

Für die bei der Durchführung dieser Arbeit jederzeit gewährte Unterstützung erlaube ich mir meinem verehrten Chef und Lehrer, Herrn Prof. Dr. Mollier, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

27. Oktober 1912.

Literaturverzeichnis.

Benda, 1902: Die Mitochondria. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 12.

v. Berenberg-Gossler, 1912a: Über gitterkapselartige Bildungen in den Urgeschlechtszellen von Vogelembryonen. Anat. Anz., Bd. 40.

Derselbe, 1912b: Die Urgeschlechtszellen des Hühnerembryos am 3. und 4. Bebrütungstage, mit besonderer Berücksichtigung der Kern- und Plasmastrukturen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81.

Bilek, 1904: Über die fibrillären Strukturen in den Muskel- und Darmzellen der Ascariden. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 93.

Derselbe, 1910: Noch ein Wort über die fibrillären Strukturen in den Darmzellen der Ascariden. Anat. Anz., Bd. 36.

Derselbe, 1910: Die Muskelzellen der grossen Ascarisarten. Anat. Anz., Bd. 37.

Boveri, 1899: Die Entwicklung der Asc. meg. mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschr. f. Kupffer, Jena.

Derselbe, 1910: Die Potenzen der Ascaris-Blastomeren bei abgeänderter Furchung. Festschr. z. 60. Geburtst. R. Hertwigs, 3. Bd.

Duesberg, 1908: Sur l'existence de mitochondries dans l'oeuf et l'embryon d'Apis melifica. Anat. Anz., Bd. 32.

Derselbe, 1908: Der Mitochondrialapparat in den Zellen der Wirbeltiere und Wirbellosen. Arch. f. mikr. Anat., 71. Bd.

Derselbe, 1909: Über Chondriosomen und ihre Verwendung zu Myofibrillen beim Hühnerembryo. Verh. d. Anat. Ges. in Giessen.

Derselbe, 1910: Les chondriosomes des cellules embryonnaires du lapin et leur rôle dans la genèse des myofibrilles. Arch. f. Zellforsch., Bd. 4

Duesberg, 1910: Sur la continuité des élements mitochondriaux des cellules et des chondriosomes des cellules embryonnaires. Anat. Anz., Bd. 35.

Derselbe, 1911: Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules seminales. Arch. f. Zellforsch., Bd. 6.

Fauré-Fremiet, 1910: Etude sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. Arch. d'anat. microscop., Bd. XI.

Geigel, 1912: Zur Mechanik der Kernteilung und der Befruchtung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 80.

Godlewski, E. jun., 1906: Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden- und Crinoidenfamilie. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 20.

Goldschmidt, 1911: Einführung in die Vererbungswissenschaft. Leipzig.

Derselbe, 1904: Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb., Bd. 21.

Greil, 1912: Richtlinien des Entwicklungs- und Vererbungsproblems. II. Teil, Jena.

Günthert, 1910: Die Eibildung der Dytisciden. Zool. Jahrb., Anat. Abt., Bd. 30.

Hertwig, O., 1909: Der Kampf um Kernfragen der Entwicklungs- und Vererbungslehre. Jena.

Derselbe, 1911: Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Ein Beitrag zur experimentellen Entwicklungs- und Zeugungslehre. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77.

Derselbe, 1912: Allgemeine Biologie. 4. Aufl. Jena.

Hertwig, G., 1911: Die Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77.

Hoven, 1910a: Sur l'histogenèse du système nerveux périphérique et sur le rôle des chondriosomes dans la neurofibrillation. Archives de Biologie, I, XXV.

Derselbe, 1910b: Contribution à l'étude du fonctionnement des cellules glandulaires. Du rôle du chondriom dans la sécrétion. Anat. Anz., Bd. 37.

Derselbe, 1912: Contribution à l'étude du fonctionnement des cellules glandulaires. Du rôle du chondriome dans la sécrétion. Arch. f. Zellforsch., Bd. VIII.

Jörgensen, 1910: Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockes von Proteus anguineus. Festschr. R. Hertwig, I. Bd.

v. Kemnitz, 1912: Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellforsch., Bd. 7.

Levi, 1911: Sulla presunta participazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. italiano di Anat. e Embryol., Vol. X.

Lewitzky, 1910: Über die Chondriosomen in pflanzlichen Zellen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. 28.

Derselbe, 1911: Vergleichende Untersuchungen über die Chondriosomen in lebenden und fixierten Pflanzenzellen. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. 29.

Derselbe, 1911: Die Chondrioplastenanlagen in lebenden und fixierten Zellen von Elodea canadensis. Rich. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. 29.

Loyez, 1909: Les premiers stades de la vitellogenèse chez quelques Tuniciers. C. R. Assoc. d'Anatom., IIe réunion Nancy.

Martini, 1906: Über Subcuticula und Seitenfelder einiger Nematoden. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 81.

Derselbe, 1907: Über Subcuticula und Seitenfelder einiger Nematoden. Zeitschrift f. wiss. Zool., Bd. 86.

Derselbe, 1908: Über Subcuticula und Seitenfelder einiger Nematoden. Zeitschrift f. wiss. Zool., Bd. 91.

Derselbe, 1909: Über Subcuticula und Seitenfelder einiger Nematoden. IV und V. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 93.

Meves, 1899: Über Struktur und Histogenese der Samenfäden des Meerschweinchens. Arch. f. mikr. Anat., Bd. LIV.

Derselbe, 1903: Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 61.

Derselbe, 1907: Über Mitochondrien bezw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. Anat. Anz., Bd. 31.

Derselbe, 1907: Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 70.

Derselbe, 1908: Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 72.

Derselbe, 1909: Über Neubildung quergestreifter Muskelfasern nach Beobachtungen am Hühnerembryo. Anat. Anz., Bd. 34.

Derselbe, 1910: Über Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes sowie über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen, insbesondere derjenigen der Sehne. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 75.

Derselbe, 1910: Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von Asc. meg. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 76.

Derselbe, 1911: Zum Verhalten des sogenannten Mittelstückes des Echinidenspermiums bei der Befruchtung. Anat. Anz., Bd. 40.

Derselbe, 1912: Weitere Beobachtungen über das Verhalten des Mittelstückes des Echinidenspermiums bei der Befruchtung. Anat. Anz., Bd. 40.

Derselbe, 1912: Verfolgung des sogenannten Mittelstückes des Echinidenspermiums im befruchteten Ei bis zum Ende der ersten Furchungsteilung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 80.

Meves und Duesberg, 1907: Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (Vespa crabro). Arch. f. mikr. Anat., Bd. 71.

Mislawsky, 1911: Beiträge zur Morphologie der Drüsenzelle. Über das Chondriom der Pankreaszelle einiger Nager. Anat. Anz., Bd. 39.

Moroff, 1909: Oogenetische Studien I. Copepoden. Arch. f. Zellforsch., Bd. 2.

Derselbe, 1912: Cyto-histogenetische Studien. Zool. Jahrb., Bd. 34.

Müller, H., 1903: Beitrag zur Embryonalentwicklung der Ascaris megalocephala. Zoologica, H. 41.

Neuhaus, 1903: Die postembryonale Entwicklung von Rhabditis nigrovenosa. Jenaische Zeitschr., Bd. 37.

Popoff, 1907: Eibildung von Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 70.

Derselbe, 1908: Experimentelle Studien. Arch. f. Zellforsch., Bd. 1.

Derselbe, 1910: Ein Beitrag zur Chromidialfrage. Festschr. R. Hertwig, Bd. 1.

Regaud, 1908: Sur les mitochondries de l'épithelium rénimal. III. Techniques variations histochimiques. C. Rend. Soc. Biol., Paris, T. 65.

Regaud et Favre, 1911: Les mitochondries des cellules néoplasmiques dans le carcinome de la mamelle chez la femme. C. rend. soc. Biol., Paris, T. 71.

Retzius, 1911: Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Eier von Ascaris megalocephala. Biologische Untersuchungen, Neue Folge XVI.

Derselbe, 1911: Rückblick auf einige in den Untersuchungen hinsichtlich des Problems der Protoplasmastruktur gemachten Befunde. Biologische Untersuchungen, Neue Folge, Bd. XVI.

Rubaschkin, 1909: Über die Urgeschlechtszellen bei Säugetieren. Anat. Hefte.

Derselbe, 1910: Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anat. Hefte.

Derselbe, 1912: Zur Lehre der Keimbahnen bei Säugetieren. Über die Entwicklung der Keimdrüsen. Anat. Hefte, Bd. 46.

Rückert, 1911: Das materielle Substrat der Vererbung. Festrede Bayr. Akad. Wiss. (noch nicht im Druck erschienen).

Schaxel, 1910/11: Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung und ersten Organbildung der Echinodermen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 76.

Derselbe, 1911: Plasmastrukturen, Chondriosomen und Chromidien. Anat. Anz., Bd. 39.

Derselbe, 1912: Versuch einer cytologischen Analysis der Entwicklungsvorgänge. Zool. Jahrb., Bd. 34, H. 3.

Terni, 1912: Dimonstrazione di condrioconti nel vivente. Anat. Anz., Bd. 41.

Derselbe, 1912: Sul comportamento dei condriosomi durante le divisioni di maturazione. Arch. ital. di Anat. e Embr., Vol. X.

Tschaschin, 1910: Über die Chondriosomen der Urgeschlechtszellen bei Vogelembryonen. Anat. Anz., Bd. 37.

Van Beneden, 1883: Recherches sur la maturation de l'oeuf et la fécondation. Arch. de Biol., T. IV.

Van der Stricht, 1904: La structure de l'oeuf des Mammifères. Ime partie. Arch. de Biol., T. 21.

Derselbe, 1904: La couche vitéllogene et les mitochondries de l'oeuf des Mammifères. Verh. d. Anat. Ges., Jena.

Derselbe, 1905: La structure de l'oeuf de Chauve-souris. Verh. d. Anat. Ges., Genf.

Derselbe, 1905: La structure de l'oeuf des Mammifères. Seconde partie. Bull. de l'Acad. R. de med. de Belgique.

Van der Stricht, 1909: La structure de l'oeuf des Mammifères (Chauve-souris). IIIme partie. Mem. de l'Acad. royal de Belgique classes des sciences. IIme serie, T. II.

Van Durme, 1907: Les mitochondries et la methode de Sjövall dans l'ovogenèse des oiseaux. Ann. de la Soc. Med. de Gand, Vol. 87.

Van Mollé, 1910: La manchette dans le spermatozoide des mammifères. Cellule, Vol. 26.

Derselbe, 1911: A propos du travail de M. Duesberg: Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellforsch., Bd. 6.

Vejdovsky, 1907: Neue Untersuchungen über Reifung und Furchung. Prag.

Derselbe, 1911—1912: Zum Problem der Vererbungsträger. Prag. Königl. böhm. Ges. d. Wiss.

Wassilieff, 1907: Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. f. mikr. Anat.

Zoja, 1896: Untersuchungen über die Entwicklung der Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 47.

v. zur Strassen, 1896: Embryonalentwicklung der Ascaris megalocephala. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. III.

Derselbe, 1906: Die Geschichte der T-Riesen von Ascaris megalocephala. Zoologica, H. 40.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VIII und IX.

Die den Zeichnungen zur Vorlage dienenden Präparate wurden mit heisser Bendascher Fixierungsflüssigkeit fixiert und teils nach Regaud, teils nach Benda gefärbt. Bei den älteren Stadien wurde nach den in Kapitel II mitgeteilten Prinzipien verfahren. Die Schwärzung der Dotterelemente in Fig. 13 und 14 wurde durch intensive Osmierung erreicht. Sämtliche Zeichnungen sind mit Hilfe des Abbeschen Zeichenprismas in Objekttischhöhe entworfen. Bei allen Zeichnungen wurde als Objektiv die homogene Immersion 1,5 mm, Ap. 1,3 von Zeiss verwendet. Als Okular diente bei Fig. 1—9, 11 und 13 Komp.-Okul. 8, bei Fig. 12 und 14 Komp.-Okul. 12, bei Fig. 14 Komp.-Okul. 18.

P = Stammzelle. m = Mesoderm.
U = Urgeschlechtszelle. en = Entoderm.
ek = Ektoderm.

Fig. 1. Vierzellenstadium. II. Stammzellengeneration.
Fig. 2. III. Stammzellengeneration.
Fig. 3. IV. Stammzellengeneration.
Fig. 4. Auftreten der beiden Urgeschlechtszellen.
Fig. 5. Querschnitt durch einen Embryo in der Höhe der Genitalanlage.
Fig. 6. Stück eines Längsschnittes durch einen gewundenen Wurmembryo.

Fig. 7. Querschnitt eines gleichaltrigen Stadiums in der Höhe der Genitalanlage.

Fig. 8. Längsschnitt durch einen Teil eines am Ende seines Embryonallebens stehenden Würmchens.

Fig. 9. Flachschnitt eines gleichaltrigen Stadiums.

Fig. 10. Urgeschlechtszellen aus einem Stadium entsprechend Fig. 7. Daneben eine Mesodermzelle.

Fig. 11. Urgeschlechtszellen aus der obersten Region eines Genitalschlauches eines jungen geschlechtsreifen Wurmes.

Fig. 12. Entwicklung der Cuticularfibrillen.

Fig. 13. Querschnitte durch ein aufgerolltes Würmchen, dessen Entwicklungsstufe ungefähr dem Stadium von Fig. 7 entspricht. Querschnitt a am weitesten kranial, dann b, dann c. Letzterer ungefähr in der Höhe der Genitalanlagen.

Fig. 14 Dotterelemente aus einem analogen Stadium bei stärkster Vergrösserung herausgezeichnet.

Anmerkung: Um die Reproduktion zu vereinfachen, wurden auch die nach Benda mit Sulfalizarin-Kristallviolett gefärbten Präparate in Schwarz gezeichnet.

Aus dem Biologischen Institut zu Berlin.

Das Verhalten des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Froschei.

Ein cytologischer Beweis für die parthenogenetische Entwicklung der Radiumlarven.

Von

Paula Hertwig.

Hierzu Tafel X.

An den Geschlechtsprodukten von Rana fusca haben O. und G. Hertwig Versuche mit Radiumstrahlung angestellt, durch die die Eier in ihrer Entwicklung beeinflusst wurden. Es seien hier von den zahlreichen Experimenten nur zwei Versuchsreihen erwähnt. Erstens wurden die Samenfäden von Rana fusca verschieden lange Zeit der Einwirkung von Radium oder radioaktiven Substanzen ausgesetzt, und mit diesen bestrahlten Spermatozoen wurden normale Froscheier befruchtet. Zweitens wurden die Eier bestrahlt und dann mit gesundem Sperma besamt.

Diese Versuche ergaben folgende Resultate:

Die Samenfäden verloren selbst bei einer längeren Bestrahlungsdauer (bis zu 12 Stunden) nicht ihre Beweglichkeit und besassen noch die Fähigkeit, in das Ei einzudringen. Sie übertrugen aber auf das Ei eine durch die Bestrahlung erworbene Schädigung, das Zeugungsprodukt wurde „radiumkrank". Da also die Funktion des im Sperma enthaltenen Plasma, die Beweglichkeit, nicht gelitten hatte, die „Radiumlarven" aber deutliche Krankheitserscheinungen aufwiesen, folgerte O. Hertwig, dass das Chromatin des Spermakopfes die vom Radium geschädigte Substanz sei und seine erworbenen krankhaften Eigenschaften auf das Zeugungsprodukt übertrage.

Diese Annahme wurde von G. Hertwig durch Bestrahlung von Froscheiern gestützt. Es zeigte sich, dass es gleichgültig ist, ob man das Ei oder den Samenfaden der Einwirkung des Radiums aussetzt. Bei gleich langer Bestrahlung 1. des Samen-

fadens, 2. des Eies, erweisen sich die Zeugungsprodukte als gleich stark geschädigt. Hieraus geht hervor, dass nur das im Ei und Samenfaden in gleich grossen Mengen enthaltene Chromatin unter der Radiumwirkung leidet; denn bei einer Schädigung des Plasma oder einer Zersetzung des Lecithins müsste die Entwicklung der Larve bei einer Bestrahlung des plasma- und dotterreicheren Eies eine ungleich schlechtere als wie in dem zuerst beschriebenen Versuch sein.

Die Experimente erlaubten aber noch andere interessante Schlüsse. Vergleicht man die Stärke der Schädigung mit der Zeit der Radiumeinwirkung, so findet man nicht — wie man erwarten sollte — mit zunehmender Bestrahlungsdauer eine stärkere Erkrankung der Radiumlarven. Von einem gewissen Zeitpunkt ab bessert sich die Entwicklung; die Larven werden älter und erreichen mehr und mehr ein normales Aussehen. Wir haben also zuerst eine der Schädigungsdauer proportionale Erkrankung, dann eine Verbesserung der Entwicklung, die nun ebenfalls der Bestrahlungsdauer direkt proportional ist. O. und G. Hertwig veranschaulichen dieses Verhalten graphisch und finden also „an Stelle einer einfachen absteigenden Kurve eine Kurve mit einem abfallenden und wieder aufsteigenden Schenkel“.

Diese Reaktion auf die Dauer der Bestrahlung erklären O. und G. Hertwig auf folgende Weise: Sie nehmen an, dass bei einer kurzen Bestrahlung das Chromatin zwar geschädigt, aber nicht entwicklungsunfähig gemacht wird. Dieses kranke Chromatin beteiligt sich am Aufbau der Zellkerne, die dadurch infiziert werden und pathologische Erscheinungen zeigen. Bei einer längeren Bestrahlung hingegen wird das Chromatin derart geschädigt, dass es gar nicht mehr an der Entwicklung teilnimmt, sondern von Anfang an als inaktiver Körper in der Eizelle liegt. In diesem Falle würde bei der weiteren Bildung des Embryo nur die Hälfte der chromatischen Elemente, die entweder vom Samenkern oder vom Eikern herrühren, allein wirksam sein. Die Entwicklung wäre daher als eine parthenogenetische resp. androgenetische (Merogonie) zu bezeichnen.

So gut auch diese hypothetischen Schlüsse die Versuchsresultate erklären, so verlangen sie doch jedenfalls noch eine cytologische Nachuntersuchung, um jeden Zweifel an ihrer Richtigkeit zu beseitigen. Zu diesem Zweck wurde die folgende Arbeit

unternommen, deren Aufgabe es ist, den Verbleib und das Verhalten des stark bestrahlten Samenkernes während der Zwei- und Vierteilung des Froscheies festzustellen.

Als Untersuchungsobjekt stand mir Material zur Verfügung, das von meinem Vater im März 1912 fixiert worden war. Die Eier gehörten folgendem Versuche an: Ein Tropfen Spermaflüssigkeit, dem zerzupften Hoden von Rana fusca entnommen, wurde am 20. März 1912 4 Stunden lang zwischen zwei Kapseln mit Mesothorium intensiv bestrahlt. Der Abstand der Kapseln betrug 2 mm; verwendet wurden zwei Mesothoriumpräparate, die an Stärke 10 mg und 55 mg reinem Radiumbromid entsprachen. Mit diesem Samen wurden ca. 60 normale Eier befruchtet. Als $3^1/_4$ Stunden nach der Besamung die erste Teilungsfurche sich bemerkbar machte, wurden einige Eier fixiert. 1 Stunde später wurde die zweite Furche sichtbar, und eine zweite Portion Eier wurde eingelegt. Die übrigen Eier gastrulierten zum grössten Teil normal mit einer geringfügigen Verzögerung gegen die Kontrolle. Nur wenige zeigten die anormale Bildung eines vergrösserten Dotterpfropfes. Nach 6 Tagen schlüpften Larven aus, die kleiner als die Kontrolltiere waren, einen kurzen Schwanz und kurzen Flossensaum besassen, sonst aber normales Aussehen zeigten. Diese Larven waren von geringer Lebenskraft und gingen an Bauchwassersucht zugrunde. Die letzten wurden noch schwach lebend, 6 Tage nach ihrem Ausschlüpfen fixiert.

Die zwei- und viergeteilten Eier dieser Serie überliess mir mein Vater zur Untersuchung.

Die Eier waren mit der Gallerthülle in Chromsublimat (konzentrierte Sublimatlösung und 0,5 % Chromsäure im Verhältnis 1 : 1) fixiert und in Formalinwasser aufgehoben worden. Vor der weiteren Behandlung wurde die Hülle vorsichtig durch Schütteln in verdünntem Eau de Javelle entfernt. Dann wurden die Eier nach den Angaben von O. Schulze mittelst Bergamottöl in Paraffin eingebettet. Um das Brüchigwerden zu verhindern, brachte ich die Eier gar nicht mit absolutem Alkohol in Berührung, sondern übertrug sie aus 95 proz. Alkohol direkt in Bergamottöl. Die Eier wurden in 10 μ dicke Schnitte zerlegt und nach der Methode von H. Poll mit Magentarot und Picroindigkarmin (20 Minuten Picroindigkarmin, 7 Minuten Magentarot, kurz in 95 proz. Alkohol differenziert) gefärbt.

Dieses Verfahren erwies sich als sehr geeignet für die Amphibieneier. Man erhält eine gelbliche bis braunrote Färbung des Dotters, aus dem sich die violettrot gefärbten Kerne gut abheben. An dieser Stelle sei auch die intensiv dunkelrote Färbung der Chondriokonten, die man bei Anwendung dieser Methode erhält, erwähnt. Besonders beim Krötenei zeichneten sich die Chondriokonten durch ihre starke Färbbarkeit aus.

Wenden wir uns nunmehr zur Schilderung der cytologischen Befunde, und betrachten wir zunächst die Schnitte durch zweigeteilte Eier. — Es zeigte sich, dass bei allen von mir untersuchten Eiern die Furchungskerne bereits wieder eine ziemlich abgerundete, bläschenförmige Gestalt angenommen haben. Sie sind stets von einem hellen Hof umgeben, da die Dotterkörner in ihrer Umgebung sehr viel lockerer liegen als wie in anderen Partien des Eies. Zwischen diesen beiden Furchungskernen fand ich in neun unter zehn untersuchten Eiern einen bläschenförmigen, dicht in die Dotterkörner eingelagerten Körper, der sich ebenso wie das Chromatin der Kerne färbte. Dieses Gebilde glaube ich mit Sicherheit als den durch die Bestrahlung geschädigten Samenkern ansprechen zu müssen; denn den Einwand, dieser Chromatinkörper sei ein Nebenspermatozoon, welches ja häufig bei Polyspermie des Amphibieneies zu finden ist, kann ich von der Hand weisen. Das Vorhandensein von nur einer deutlich pigmentierten Samenstrasse in meinen Präparaten beweist die monosperme Befruchtung der Eier, die ja übrigens beim Froschei gewöhnlich eintritt. — Ich werde daher im folgenden dieses kernartige Gebilde als das „Radiumchromatin" bezeichnen.

Dieses Radiumchromatin fand ich in den meisten Präparaten als ein ziemlich grosses, etwas gestrecktes Bläschen nur in der einen Eihälfte liegen, jedoch stets in der zwischen den beiden Kernen befindlichen Zone (Fig. 2, 4 und 5). Bald liegt es unmittelbar an der Teilungsebene des Eies (Fig. 2 und 5), bald ist es näher an den einen Kern herangerückt (Fig. 4). In einem anderen Präparat (Fig. 3) fand ich das Radiumchromatin in beiden Eihälften vor. Es liegt in Form zweier länglicher Bläschen in der Nähe von je einem Furchungskern. Wie die Verteilung auf die beiden Eihälften zustande kommt, lehren uns Fig. 1 und 6. In diesen beiden Präparaten sehen wir das Radiumchromatin genau in der Mitte zwischen beiden Kernen liegen. Es ist zu

einem langen, in der Mitte verdünnten Strang ausgezogen. Die Enden zeigen bläschenförmige Anschwellungen. Schnürt nun die Teilungsebene das Ei tiefer ein, als wie es bei Fig. 1 der Fall ist, dann wird der Strang an der dünnsten Stelle durchgetrennt, und die beiden Enden werden weiter auseinander gezogen werden; wir erhalten ein Fig. 3 ähnliches Bild.

Schnitte durch viergeteilte Eier (Fig. 7, 8, 9, 7a, 8a) geben uns darüber Auskunft, wie sich das Radiumchromatin bei der weiteren Entwicklung des Eies verhält. Auch hier stand mir leider kein Material zur Verfügung, das noch ausgebildete Chromosomen aufwies, sondern in allen Eiern waren die Kerne bereits in den bläschenförmigen Zustand übergegangen.

In allen vier von mir untersuchten Eiern habe ich das Radiumchromatin gefunden, das in seinem Aussehen wenig verändert war. Wir finden auch hier einen bläschenförmigen Körper mit dunkler gefärbten Chromatinbalken (Fig. 7—9). Das Radiumchromatin liegt in unseren Figuren in einiger Entfernung von dem Furchungskern, schon ganz aus seiner Attraktionssphäre herausgerückt. In allen vier Eiern findet sich nur ein solcher Nebenkern; das Radiumchromatin wurde also nur auf eine der vier Blastomeren verteilt. Hieraus können wir schliessen, dass uns diese Eier, hätte man sie früher fixiert, Bilder wie Fig. 2 und Fig. 4, 5 gegeben hätten.

Es wären bei den viergeteilten Eiern noch andere Bilder denkbar, als wie die von mir geschnittenen Eier uns zeigen. Hätten sich die Eier, nach denen die Fig. 1, 3, 6 gezeichnet sind, weiter entwickelt, so würden wir sicherlich in zwei Blastomeren Radiumchromatin vorfinden. Für ausgeschlossen halte ich hingegen eine Verteilung des Radiumchromatins auf alle vier Blastomeren, da hierzu eine nochmalige Teilung desselben hätte stattfinden müssen; das ganze Verhalten und das Aussehen des Radiumchromatins widerspricht aber einer solchen Annahme.

Aus den eben beschriebenen cytologischen Befunden ziehe ich folgende Schlüsse:

Da ich in allen Eiern pathologisch veränderte Kernsubstanz vorfand, diese nur von dem eingedrungenen, bestrahlten Spermatozoon herrühren kann, scheint mir festzustehen, dass das Chromatin des Samenfadens die vom Radium affizierte Substanz ist. Dieses Resultat steht in voller Übereinstimmung mit den

von mir festgestellten Chromatinveränderungen am bestrahlten Ascarisei und findet auch in den Untersuchungen von G. Hertwig über das Verhalten des bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei seine Bestätigung.

Zweitens glaube ich durch diese Untersuchung bewiesen zu haben, dass intensive Radiumbestrahlung tatsächlich zu einer vollständigen Vermehrungsunfähigkeit des Spermachromatins führt. Mit dem Eindringen in das Ei, wodurch der Anreiz zur Entwicklung gegeben wird, ist der Anteil des Radiumchromatins an der Entwicklung erschöpft. Die Hypothese O. und G. Hertwigs besteht daher zu Recht, dass wir es in diesen Versuchen mit parthenogenetisch sich entwickelnden Larven zu tun haben. Nicht anders wie der Anstich mit einer feinen Nadel in Bataillons Versuchen wirkt hier das Eindringen des Samenfadens.

Zur Stütze meiner Behauptung kann ich folgende Punkte anführen:

Die Lage und die Struktur des Radiumchromatins sprechen gegen seine Beteiligung am Teilungsprozess. Auch in den Fällen, in denen das Radiumchromatin in ziemlich gleich grossen Mengen in beiden Eihälften zu finden ist und wo man eine durch Mitose stattfindende Verteilung annehmen könnte, beweisen Bilder wie in Fig. 1 und 6, dass auch hier eine von der Bildung der Tochterkerne gänzlich gesonderte Verteilung des Radiumchromatins stattgefunden hat. Fig. 1 und 6 zeigen, dass der Spermakern gänzlich die Fähigkeit zur Chromosomenbildung verloren hat und dass die einzige Teilungsmöglichkeit in einer Art von Amitose besteht.

Die Lage und Form des Radiumchromatins lässt sich in allen Fällen leicht erklären, wenn man es sich als einen Körper vorstellt, der zwar durch den Teilungsprozess im Ei beeinflusst wird, aber zu jeder aktiven Arbeit unfähig geworden ist. In die Attraktionssphäre der Teilung gezogen, wird das Radiumchromatin als gestrecktes Bläschen je nach dem Zufall nur auf eine oder auch auf beide Hälften verteilt.

Nähme man trotzdem die Möglichkeit an. dass Bestandteile des Spermachromatins in die Furchungskerne aufgenommen würden, so müsste man in diesen das pathologische Radiumchromatin von den normalen Bestandteilen des Eikerns unterscheiden können. Wir müssten Bilder erhalten, wie sie G. Hertwig in seinen Abbildungen von den Kernen des Seeigeleies darstellt (vgl. Arch.

f. mikr. Anat., Bd. 79, Taf. XI, Fig. 17—20). Im Seeigelei ist es zu einer Verschmelzung des männlichen und weiblichen Chromatins gekommen; wir erkennen aber deutlich das Radiumchromatin im Kern, das in demselben einen oder mehrere intensiv sich färbende Klumpen bildet. Im Froschei hingegen haben die Kerne durchaus ein normales Aussehen, sie zeigen keine Spur von pathologischer Klumpenbildung in ihrem Chromatinnetz.

Hierzu kommt noch, dass keine gleichmässige Verteilung des Radiumchromatins auf beide Blastomerenkerne zu erwarten wäre. Man müsste daher, wenn man eine Verschmelzung annähme, Bilder finden, in denen der eine Kern grösser ist als der andere. Da aber die Kerne der beiden Seiten in meinen Präparaten keine erkennbaren Grössenunterschiede zeigen, ist auch aus dieser Tatsache zu schliessen, dass die beiden ersten Furchungskerne überhaupt kein Radiumchromatin enthalten.

Erst recht unwahrscheinlich erscheint irgend eine Beeinflussung der Vierteilung durch das Radiumchromatin. Es ist wohl klar, dass alle Gründe, die ich für seine Inaktivität bei der ersten Teilung angeführt habe, im erhöhten Maße für die zweite Teilung gelten.

Das Verhalten des Radiumchromatins während der folgenden Entwicklungsstadien zu untersuchen, ist wohl kaum erforderlich. Der Spermakern wird noch einige Zeit in einer der Blastomeren zu erkennen sein, dann zerfallen und resorbiert werden, wie es auch bei den in Amphibieneiern zuweilen beobachteten Nebenspermatozoen der Fall ist. Ich glaube, dass dieser Zerfall ohne weitere Schädigung für den Embryo vor sich geht; denn sollten durch den Zerfall des kranken Chromatins Vergiftungserscheinungen auftreten, könnte nur eine Zelle und eventuell deren Nachkommen davon betroffen werden, die anderen Zellen müssten normal bleiben. Eine derartige partielle Erkrankung ist aber nicht beobachtet worden; die Embryonen erwiesen sich nur im ganzen als wenig lebenskräftig. Die Konstitutionsschwäche der Radiumlarven ist daher auf andere Ursachen zurückzuführen, sie wäre z. B. in der Unmöglichkeit einer normalen Entwicklung des Froscheies mit haploider Chromosomenzahl zu suchen. (Siehe G. Hertwig, Parthenogenesis bei Wirbeltieren.)

Ich glaube, dass die hier von mir angeführten Gründe für die parthenogenetische Entwicklung der Radiumembryonen aus-

reichend sind, und dass daher die Untersuchung von noch früheren Entwicklungsstadien des Eies, Phasen, in denen es möglich ist, das Verhalten des Radiumchromatins während der Mitose zu beobachten, nicht mehr notwendig ist.

Ich komme zum Schluss noch auf einen Vergleich meiner Resultate mit den Ergebnissen, die G. Hertwig erhielt in seiner schon vorhin erwähnten Arbeit: „Das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei". Zuerst seien die verschiedenartigen Versuchsresultate bei der Bestrahlung des Frosch- oder Seeigelsamens besprochen.

Beim Seeigel war es, wie G. Hertwig auseinandersetzt, nicht möglich, bei längerer Bestrahlung eine bessere Entwicklung zu erhalten. Auch waren die ersten Teilungsstadien beim Seeigel stets etwas verspätet gegenüber der Kontrolle, während beim Frosch Kontrolle und Versuchseier sich gleichzeitig teilten. Dieses verschiedene Verhalten muss natürlich auch in einer Verschiedenheit der cytologischen Befunde zutage treten. Dies ist auch der Fall, so ähnlich auf den ersten Blick die Bilder auch aussehen. (Man vergleiche Fig. 10, 11 G. Hertwigs mit Fig. 2, 4, 7 dieser Arbeit.) G. Hertwig hat meistens eine Verschmelzung des Samenkerns mit dem Eikern vor der ersten Teilung, manchmal auch erst im zwei- oder viergeteilten Ei konstatieren können. Dadurch erhalten wir beim Seeigel entweder schon bei der ersten Teilung pathologische Bilder und Knospenfurchung bei weiterer Entwicklung, oder es wird nur ein Teil der Blastomerenkerne pathologisch und dadurch die Entwicklung in früheren Stadien gehemmt.

Mein Resultat, dass beim Frosch der Spermakern in keinem Falle mit dem Eikern verschmilzt, erklärt uns auf das beste die ungleiche Entwicklung der Frosch- und Seeigellarven.

Dieser Unterschied im Verhalten des Radiumchromatins muss natürlich seine Erklärung in der Organisation des Frosch- und Seeigeleies finden. Vielleicht ist der Grund in dem Verhalten der Kerne bei dem Befruchtungsvorgang zu suchen, der sich beim Frosch und Seeigel verschieden abspielt. Während dieser beim Frosch sowie bei den meisten anderen Tieren so verläuft, dass kein Chromatinaustausch zwischen weiblichem und männlichem Vorkern stattfindet, sondern aus der Chromatinmasse eines jeden Kernes gesondert die Chromosomen gebildet werden, sind beim Seeigel andere Vorgänge zu beobachten. Frühzeitig

legen sich hier der weibliche und männliche Vorkern aneinander und verschmelzen, bevor der Spermakern zur Grösse des Eikerns angeschwollen ist. Man erkennt im Verschmelzungsprodukt noch längere Zeit das Spermachromatin als kompakteren Klumpen, bis auch dieser sich durch Flüssigkeitsaufnahme lockert, und so zum Schluss die beiden Komponenten, die den Kern bilden, nicht mehr voneinander zu unterscheiden sind. Erst dann beginnt die Chromosomenbildung. Es ist nun wahrscheinlich, dass während der Verschmelzungsperiode auch eine Vermischung des weiblichen und männlichen Chromatins stattfindet.

Wenn diese Annahmen über den Verlauf der Befruchtung beim Frosch und Seeigel richtig sind, so würden wir wohl in diesem verschiedenartigen Verhalten des Chromatins auch den Grund für das Ausscheiden oder Verschmelzen des bestrahlten Spermachromatins zu suchen haben.

Literaturverzeichnis.

Bataillon, E.: Le problème de la fécondation circonscrit par l'imprégnation sans amphimixie et la parthénogénèse traumatique. Arch. de Zool. Exp., Tome 6, Nr. 2, 1910.

Hertwig, G.: Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.

Derselbe: Das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.

Derselbe: Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch artfremden radiumbestrahlten Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II, 1913.

Hertwig, O.: Allgemeine Biologie. IV. Auflage, Jena 1912.

Derselbe: Der Kampf um Kernfragen der Entwicklungs- und Vererbungslehre. Jena, G. Fischer, 1909.

Derselbe: Die Radiumstrahlung in ihrer Wirkung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 15. Juli 1909. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XI, 1910.

Derselbe: Neue Untersuchungen über die Wirkung der Radiumstrahlung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 28. Juli 1910. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XXXIX, 1910.

Derselbe: Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Bonn, Fr. Cohen, 1911.

Derselbe: Mesothoriumversuche an tierischen Keimzellen, ein experimenteller Beweis für die Idioplasmanatur der Kernsubstanzen. Mitteilung vom 6. Juli 1911. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XL, 1911.

Derselbe: Disharmonische Idioplasmaverbindungen und ihre Folgen. Scientia, Bd. 12, Jahrg. 6, 1912.

Hertwig, Paula: Durch Radiumbestrahlung hervorgerufene Veränderungen in den Kernteilungsfiguren der Eier von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.
Michaelis, L.: Die Befruchtung des Tritoneies. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 48, 1896.
Poll, Heinrich: Über die umgekehrte Cajalsche Färbung. Verh. d. Anat. Ges., 1908.
Schultze, O.: Über die Eireifung und Befruchtung des Amphibieneies. Zeitschr. f. wiss. Zool., 45.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel X.

Alle Figuren stellen Schnittbilder durch Eier von Rana fusca auf verschiedenen Entwicklungsstufen dar; die Eier wurden sämtlich mit Samen befruchtet, der 4 Stunden intensiv mit Radium bestrahlt worden war.

Fig. 1—6 stammen von Eiern, die 3 Stunden nach der Befruchtung fixiert wurden.

Fig. 1. Photographie nach einem Schnitt durch ein Froschei bei beginnender Zweiteilung. Kerne und Radiumchromatin überzeichnet. Vergrösserung 1 : 100.

Fig. 2—6 wurden nach Schnitten durch Froscheier bei 250facher Vergrösserung gezeichnet. Es sind nur die beiden Furchungskerne und der durch die Bestrahlung geschädigte Spermakern dargestellt. Die Durchschnürung des Eies hat erst eben begonnen, die Teilungsebene dringt etwa ebenso weit in das Ei ein wie bei Fig. 1. In keinem Falle gelangt die Einschnürung bis in die Nähe der Kernregion. Die Figuren wurden aus mehreren aufeinanderfolgenden Schnitten kombiniert.

Fig. 7—9 stammen von Eiern, die 4 Stunden nach der Befruchtung fixiert wurden.

Fig. 7a und 8a stellen Flachschnitte durch Eier bei beginnender Vierteilung in 50facher Vergrösserung dar. Die erste Teilungsfurche hat das Ei durchschnürt, die zweite wird bei Fig. 7a in der Region der Kerne eben sichtbar, während sie bei Fig. 8a noch nicht zu erkennen ist. Auch diese Bilder wurden aus vier aufeinanderfolgenden Schnitten kombiniert.

Fig. 7 und 8 sind nach denselben Präparaten bei 250facher Vergrösserung gezeichnet und stellen den einen Furchungskern mit daneben liegendem Radiumchromatin dar.

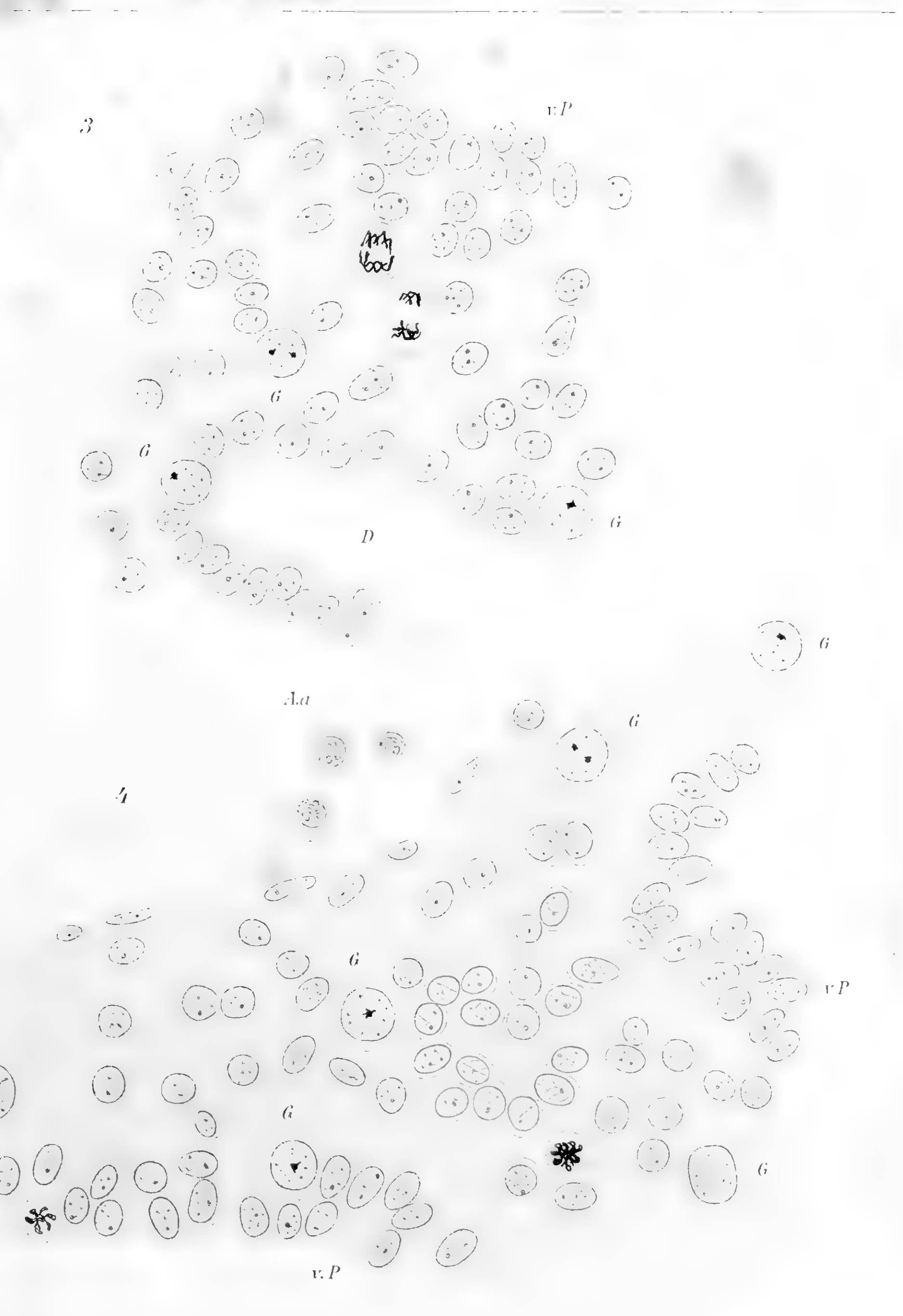
Fig. 9 stellt einen Furchungskern und das ihm benachbarte Radiumchromatin bei 250facher Vergrösserung dar. Die Figur wurde nach einem Präparat eines Eies mit beginnender Vierteilung, dessen Totalbild etwa Fig. 8a entspricht, gezeichnet.

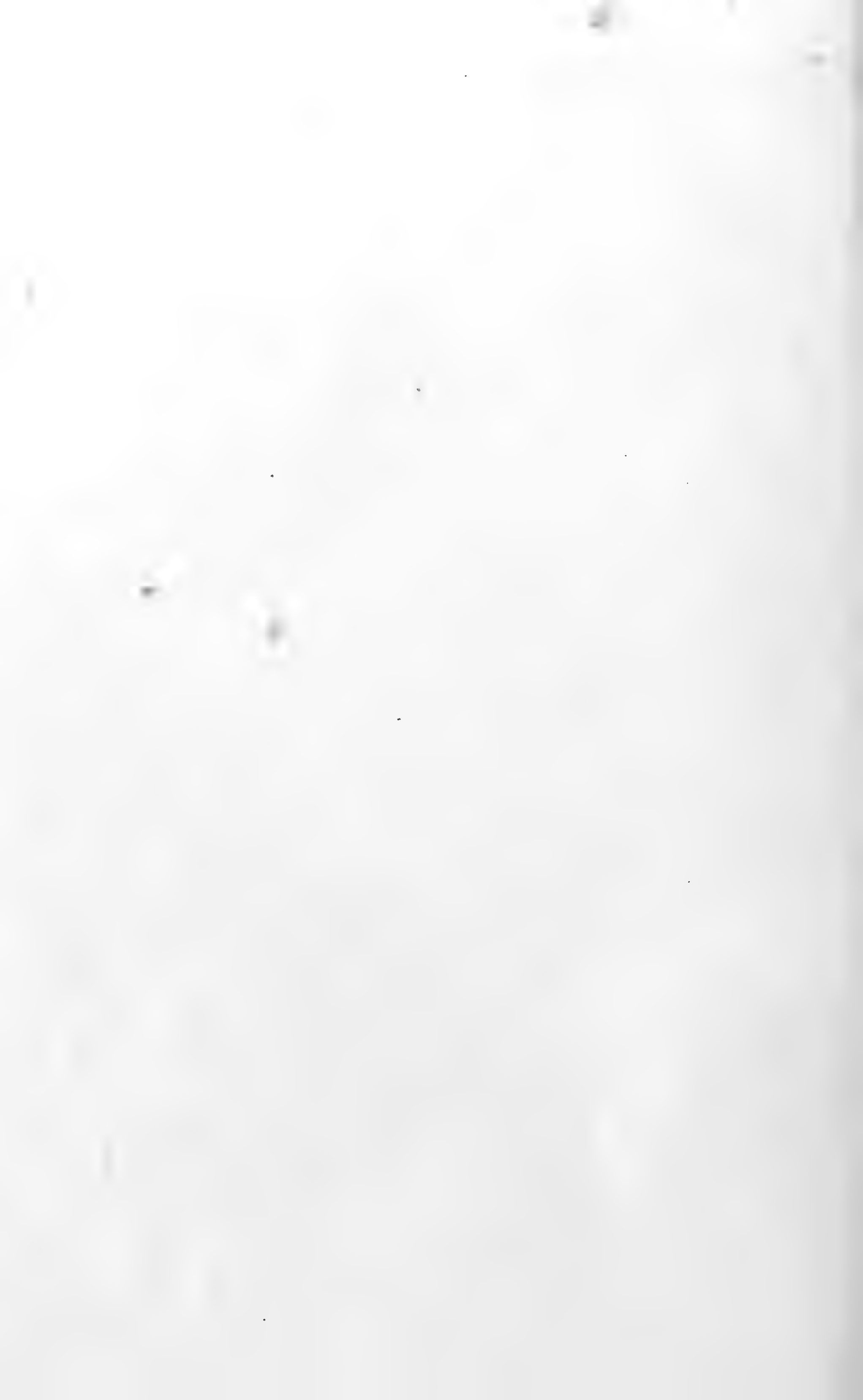


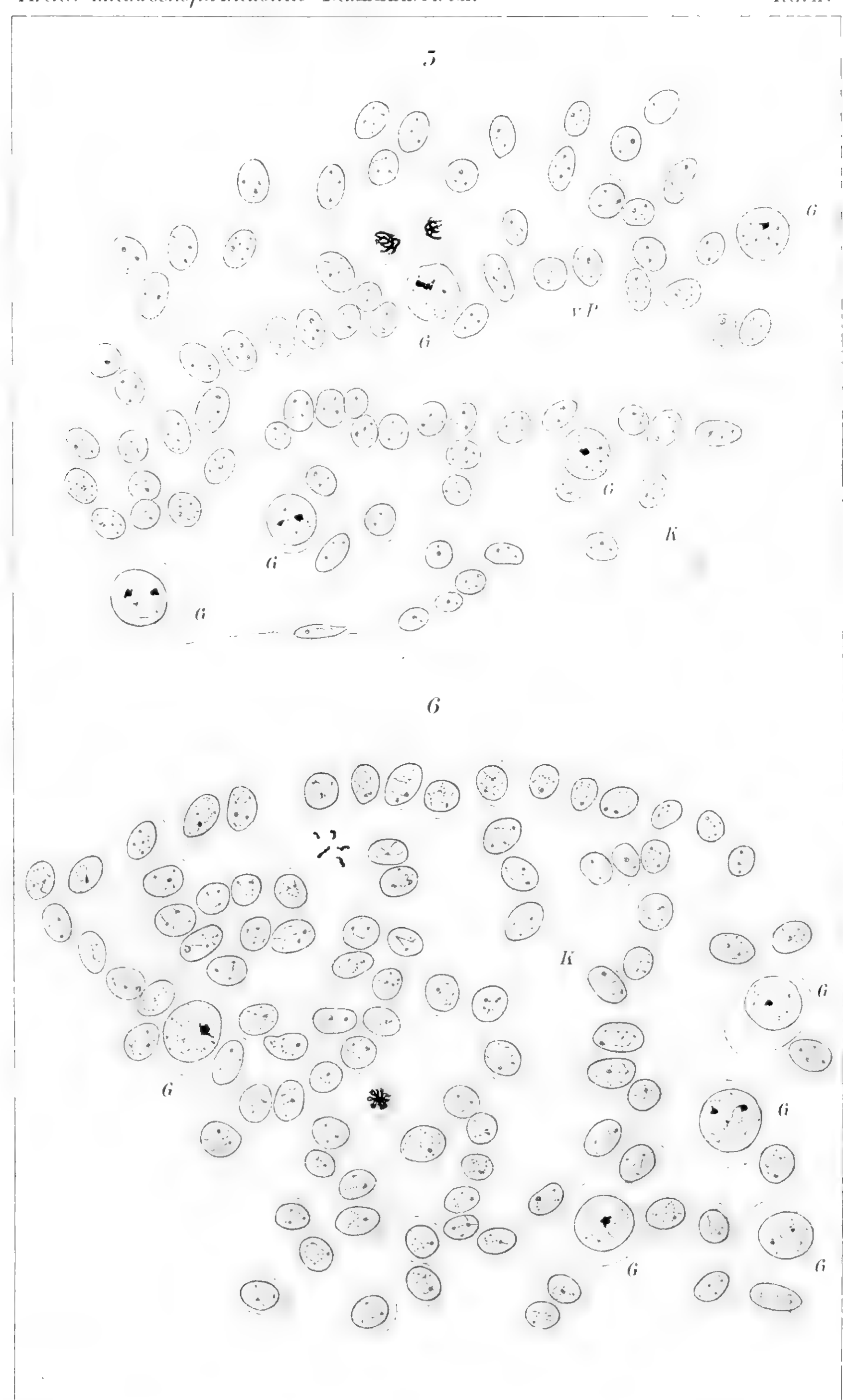





1
G
En
G
G
M
2
D
G
G
G
G
v. P

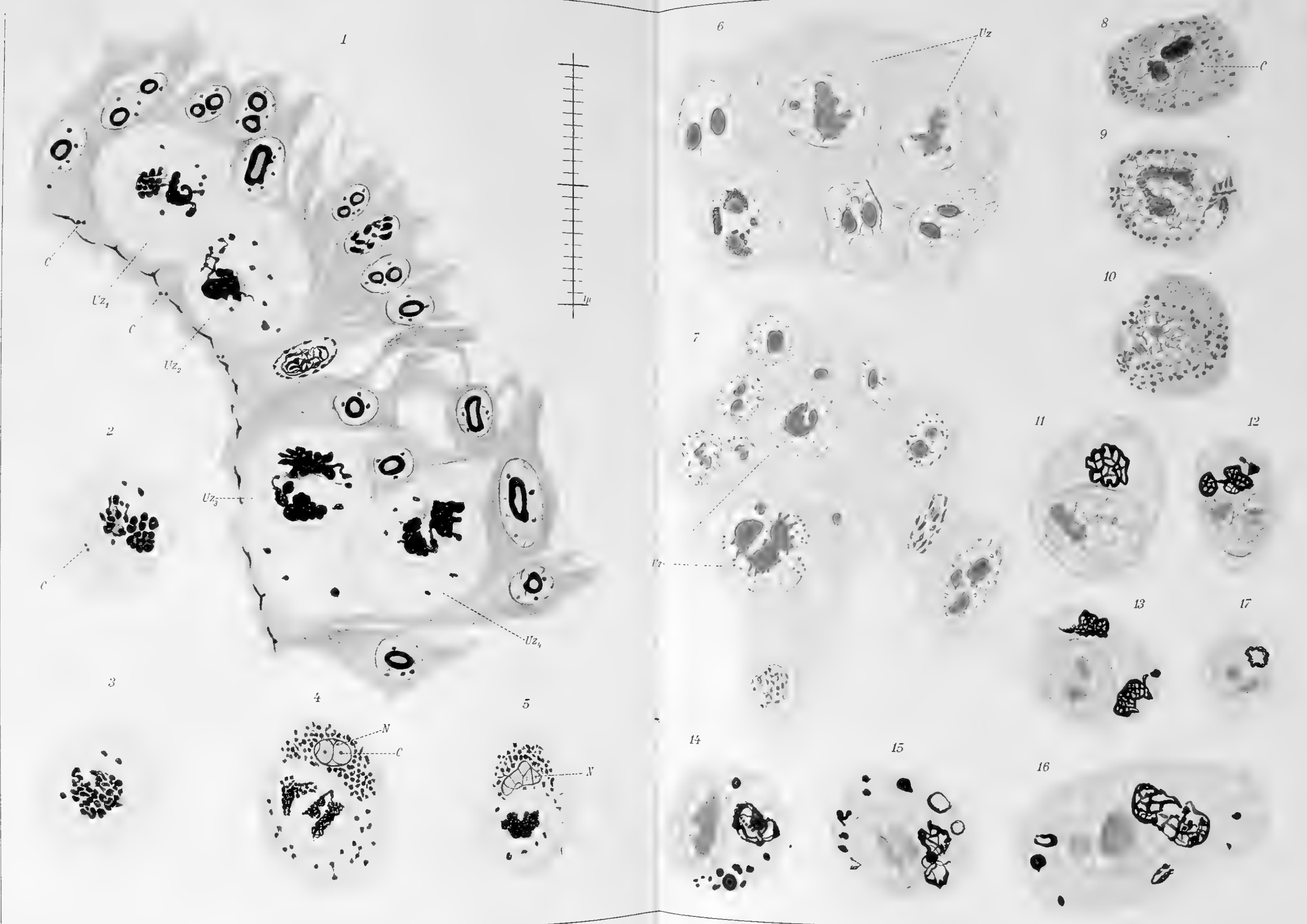

3
v.P
G
G
G
D
G
Aa
G
4
G
v.P
G
G
G
v.P

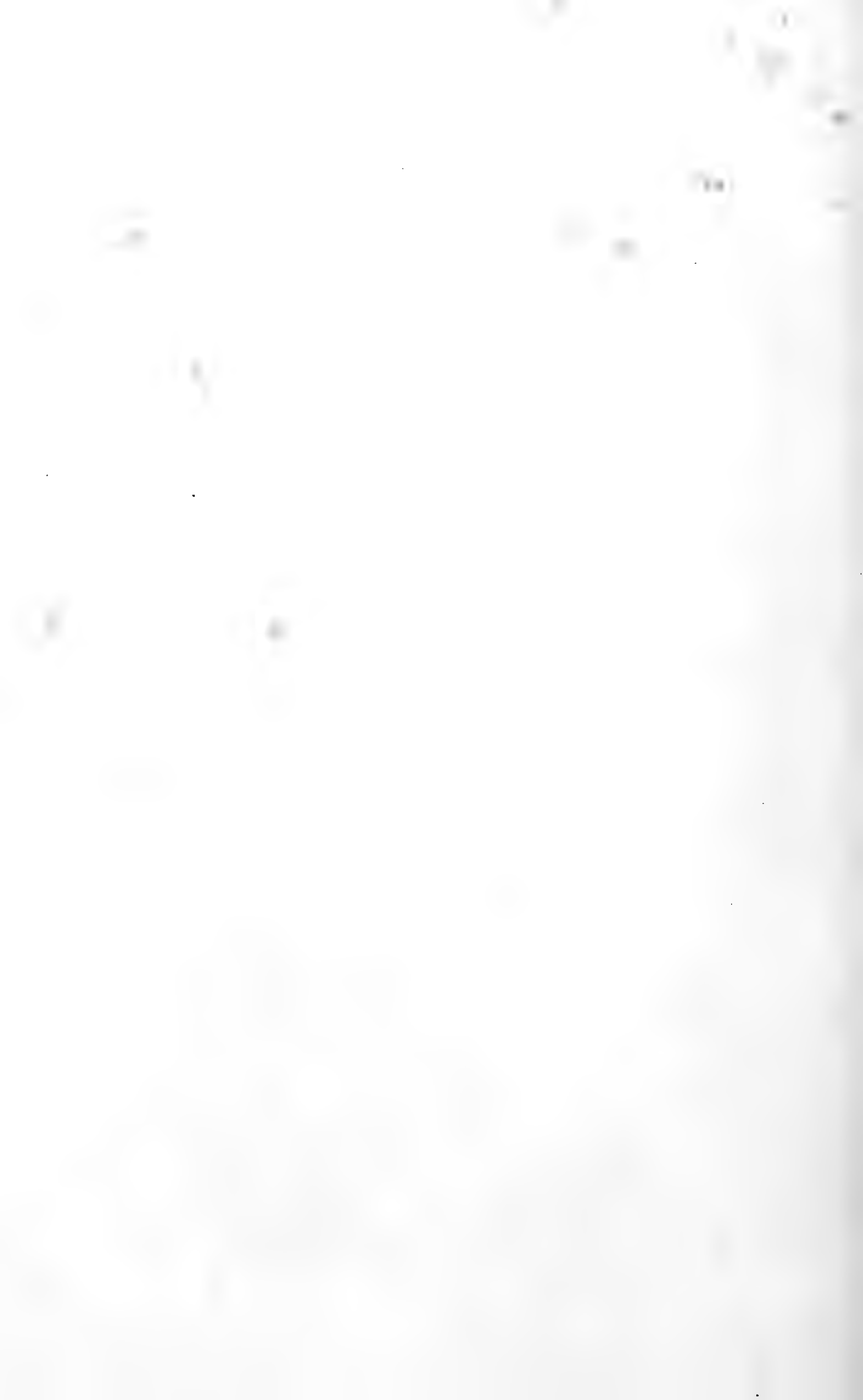



5
G
vP
G
G
K
G
G
6
K
G
G
G
G
G
G



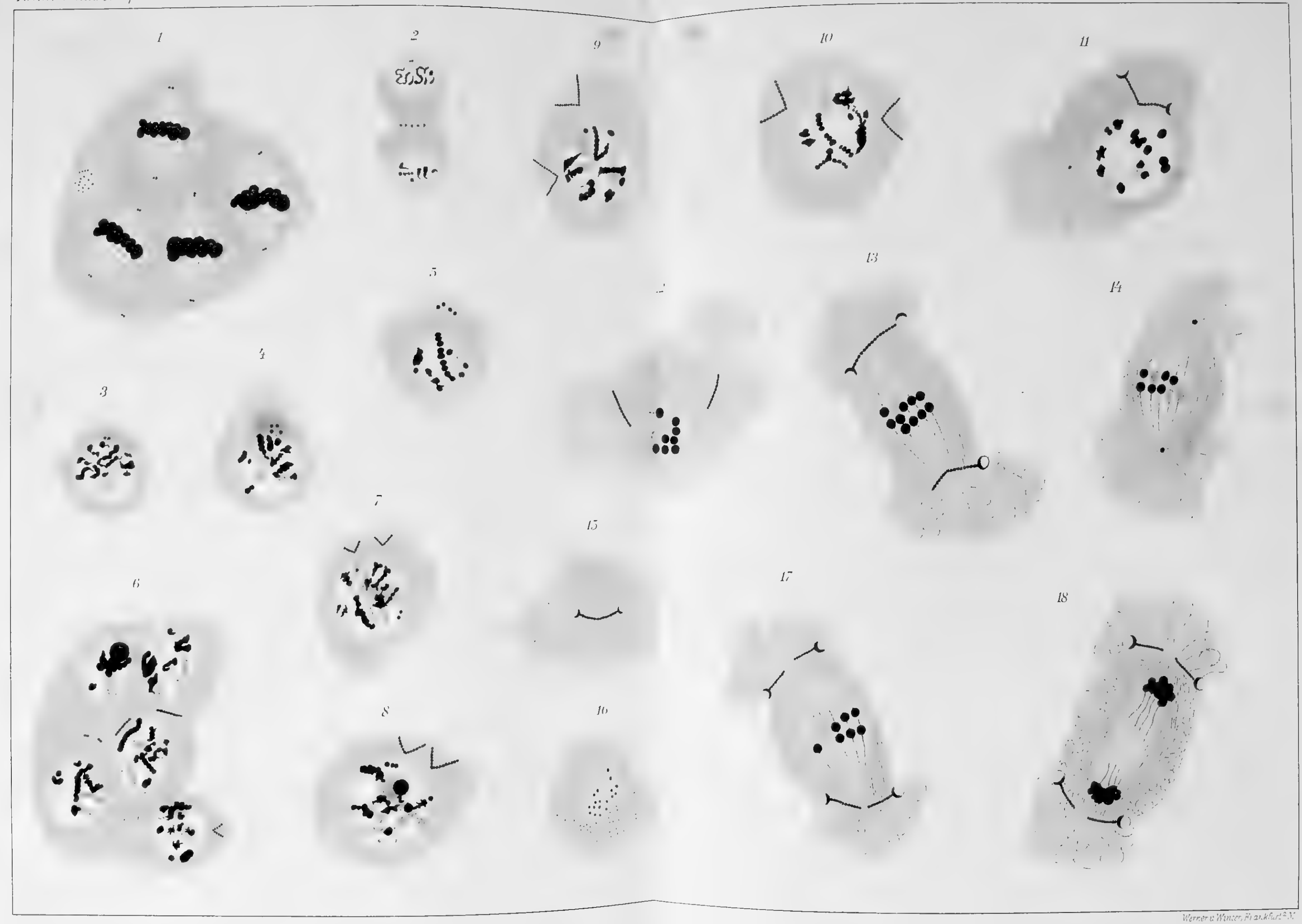



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
C
Uz1
Uz2
Uz3
Uz4
Uz
N
1μ



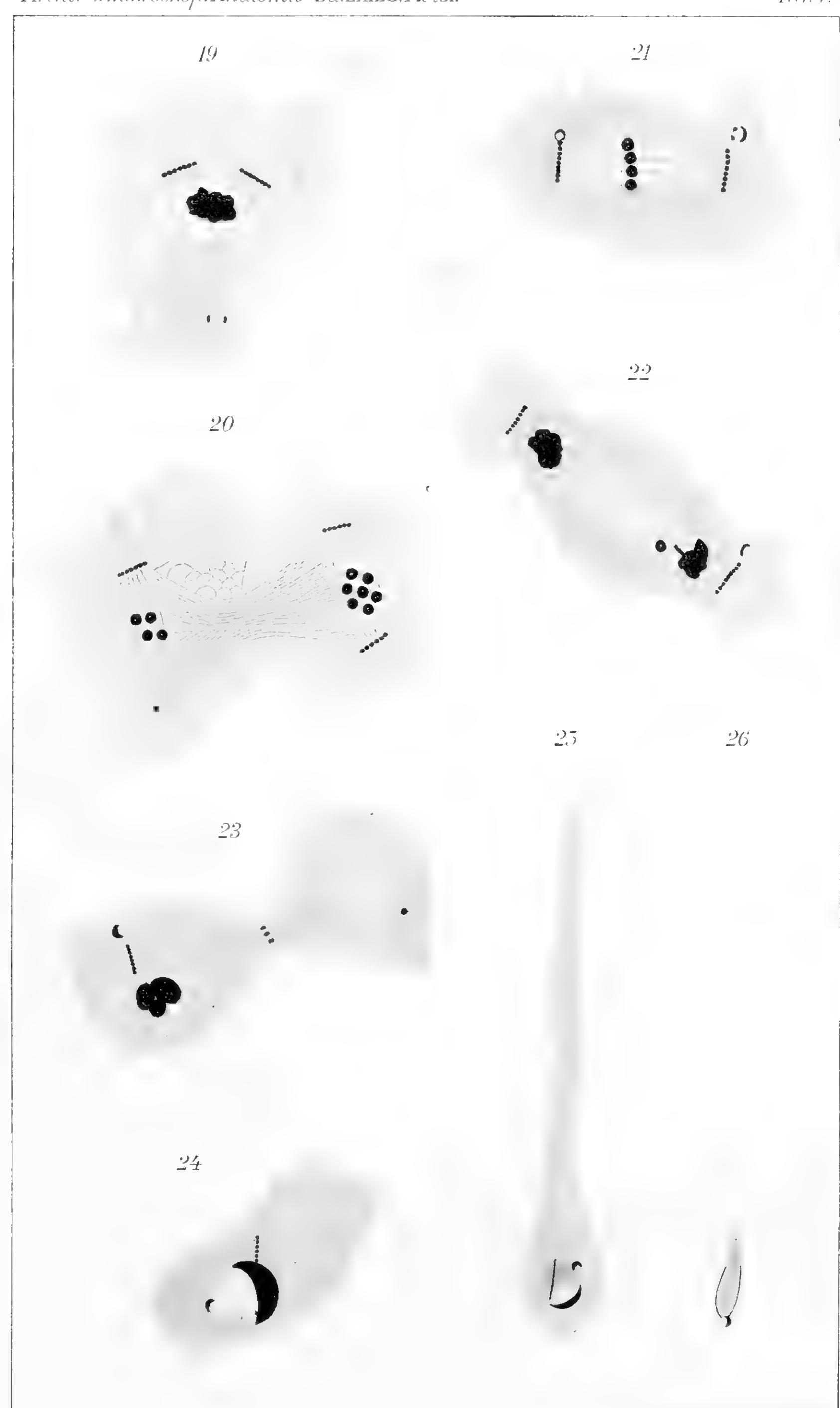


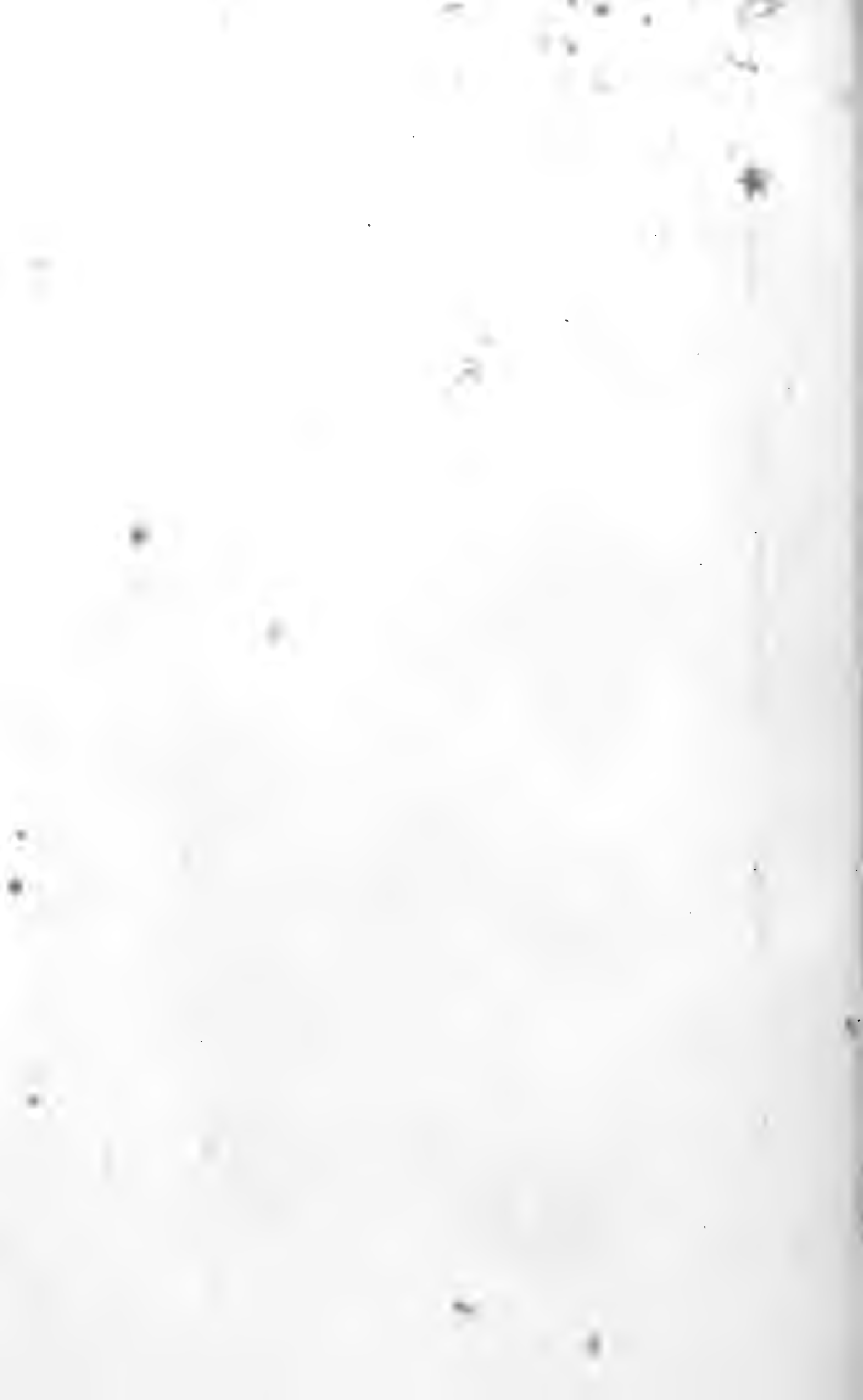




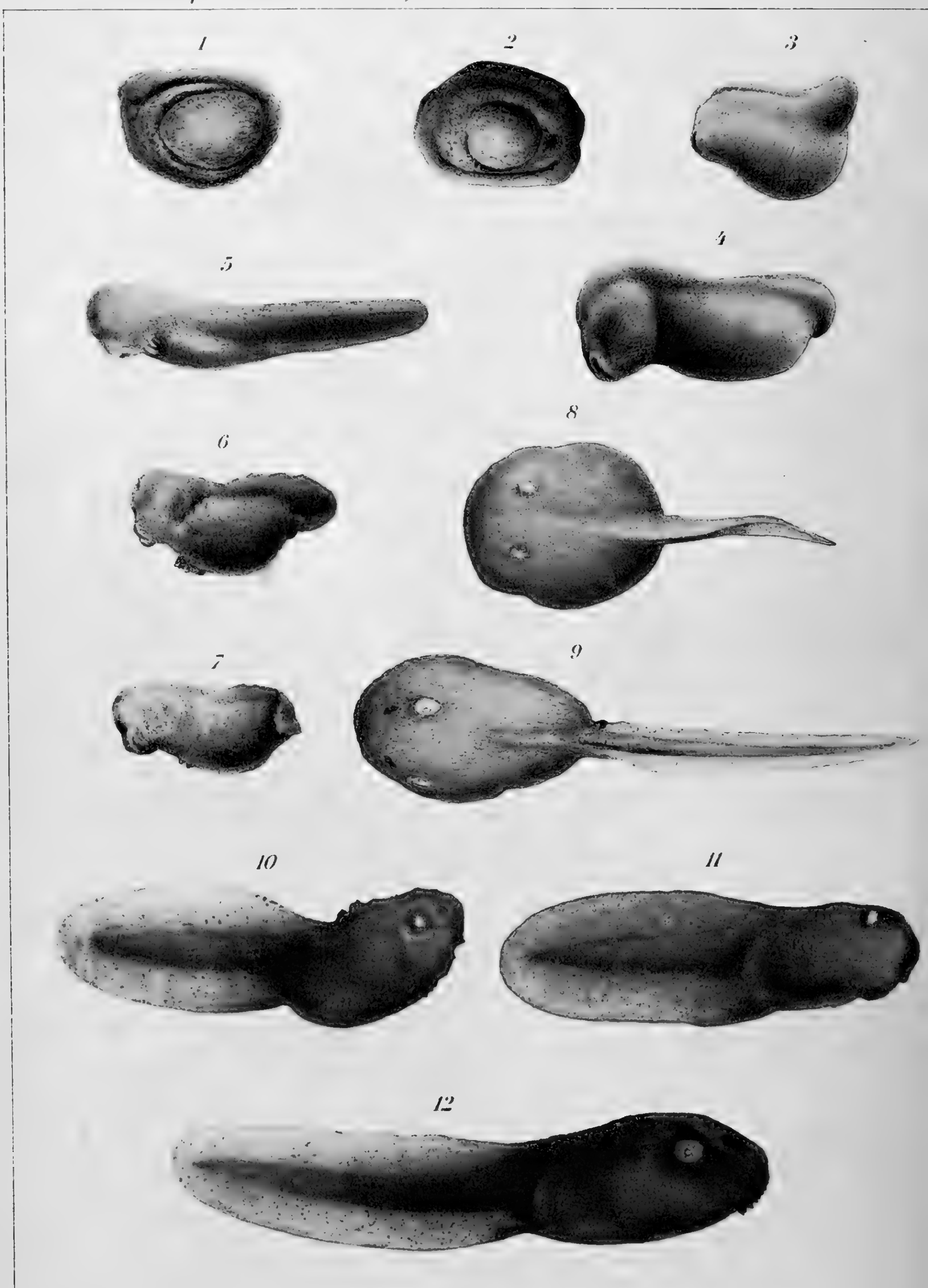
Werner u. Winter, Frankfurt a. M.



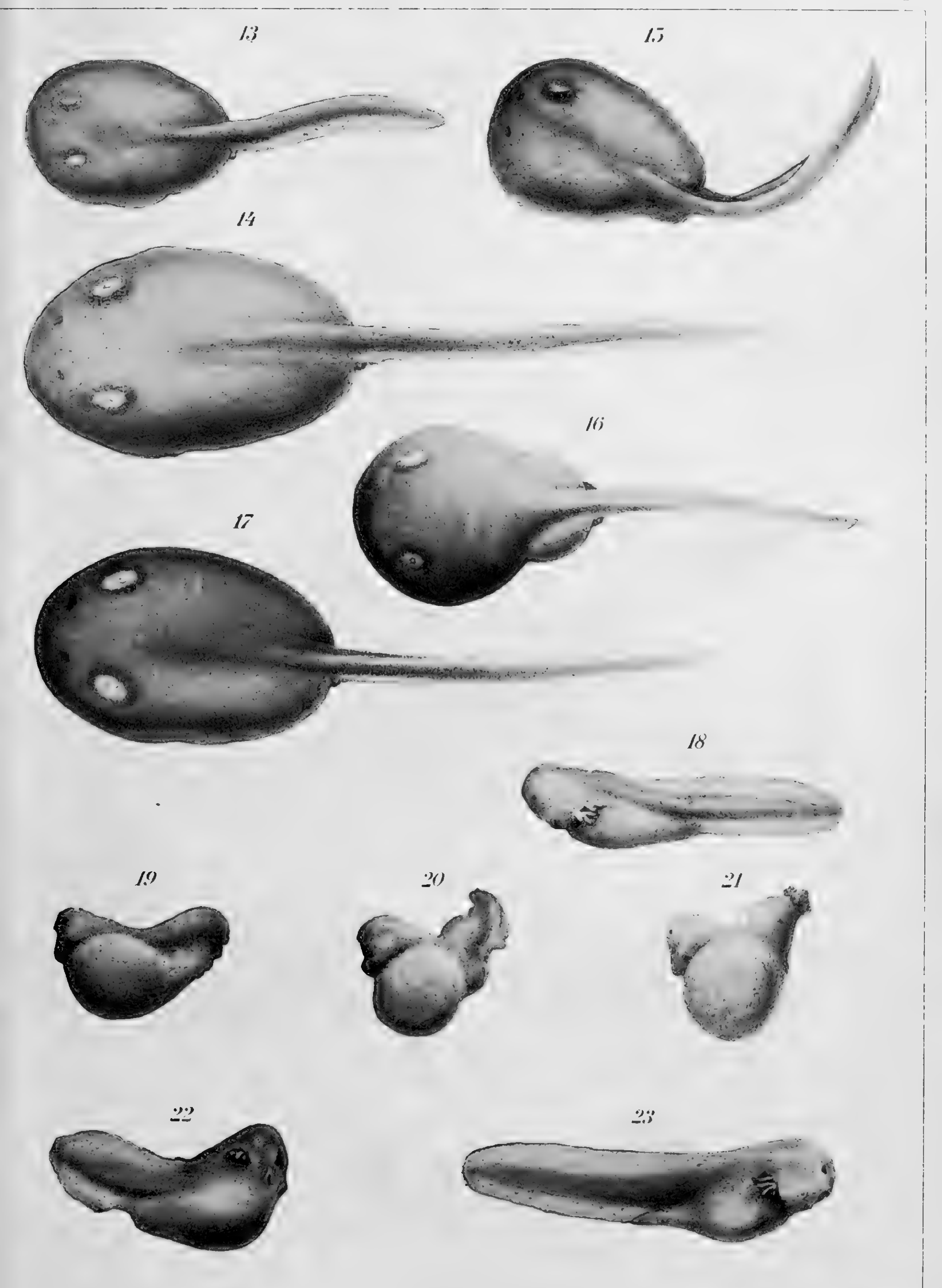

19
20
21
22
23
24
25
26







Günther Hertwig fec.

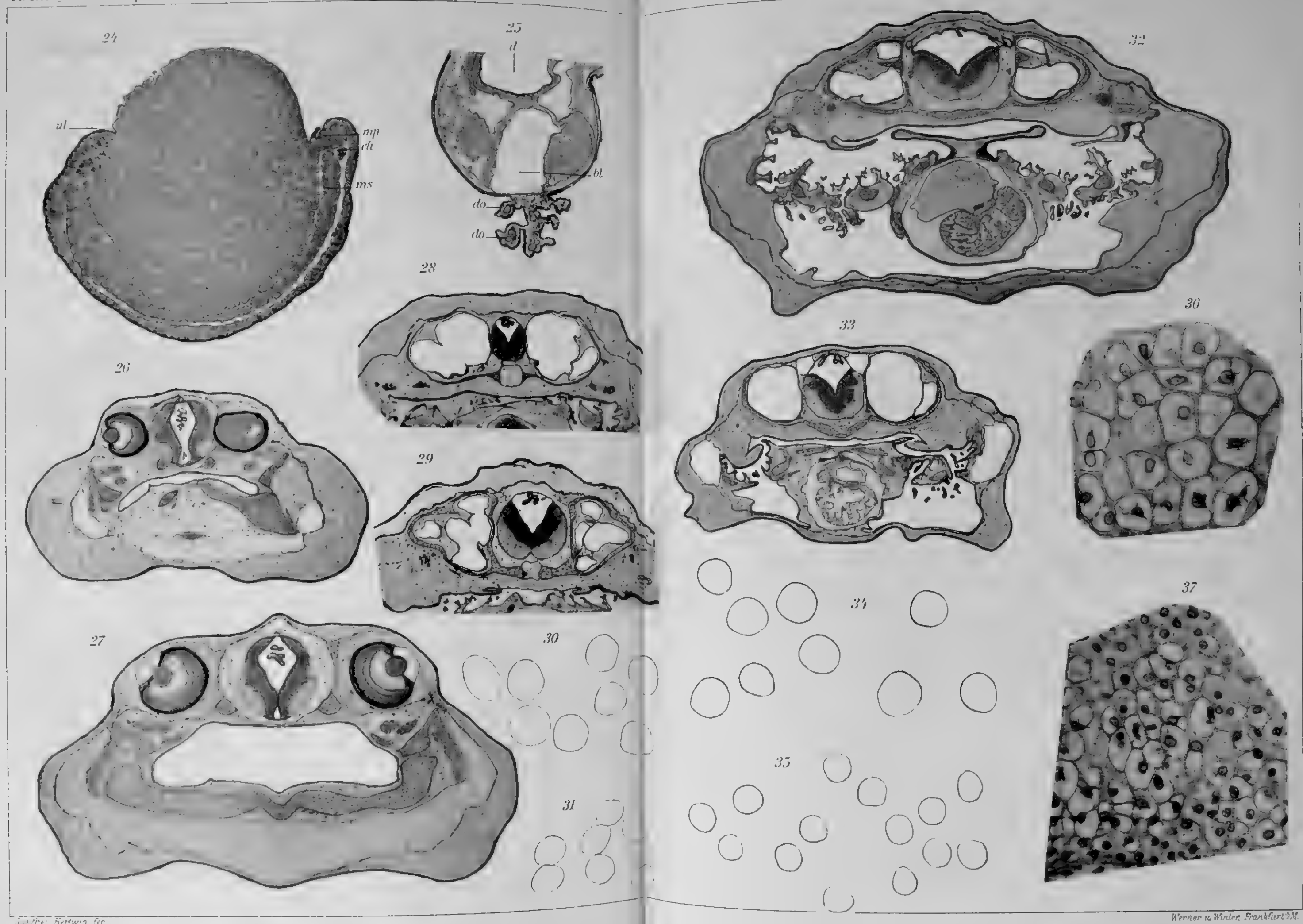


Werner u. Winter, Frankfurt a/M.





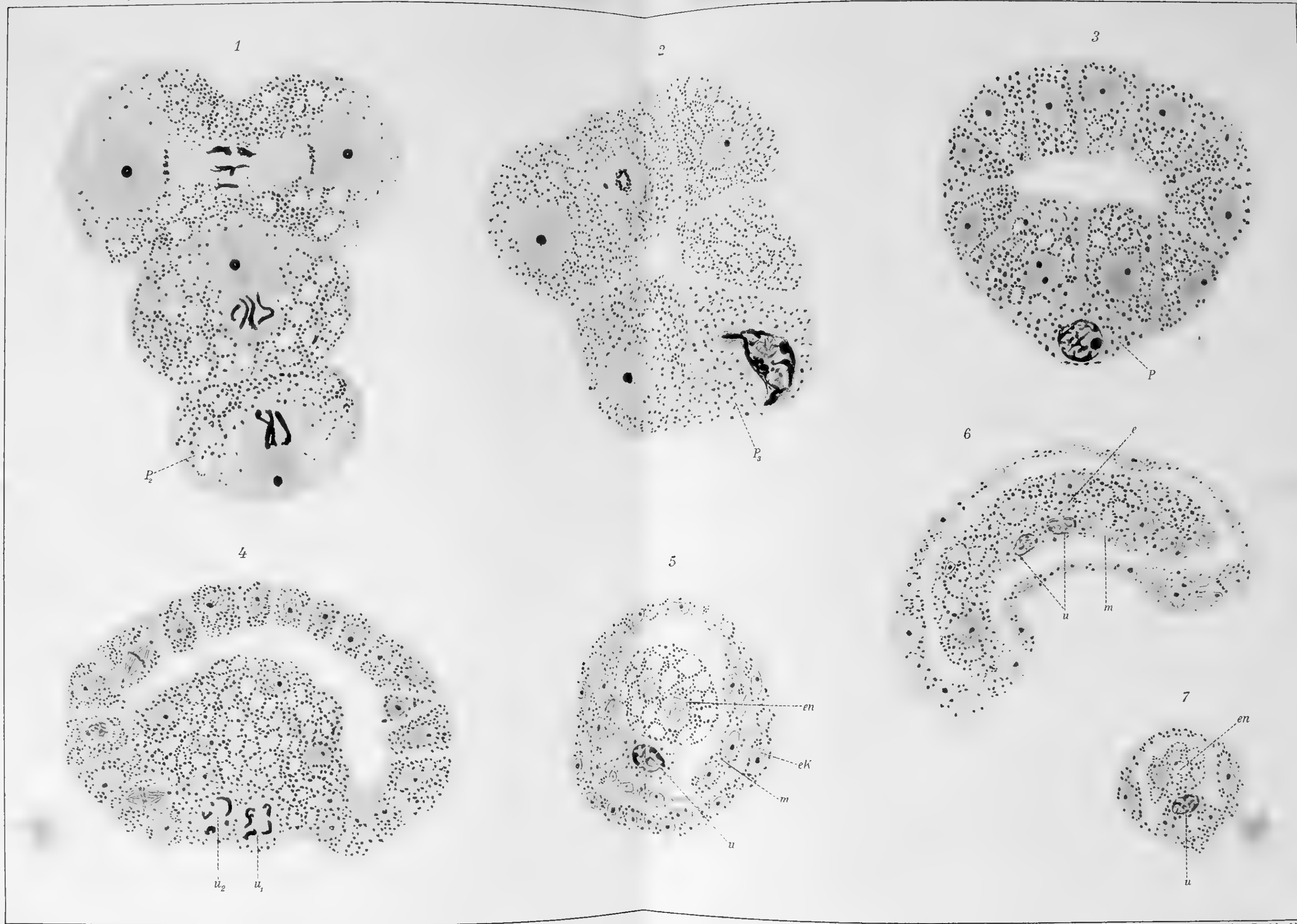



24
ul
mp
ch
ms
25
d
bl
do
do
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37

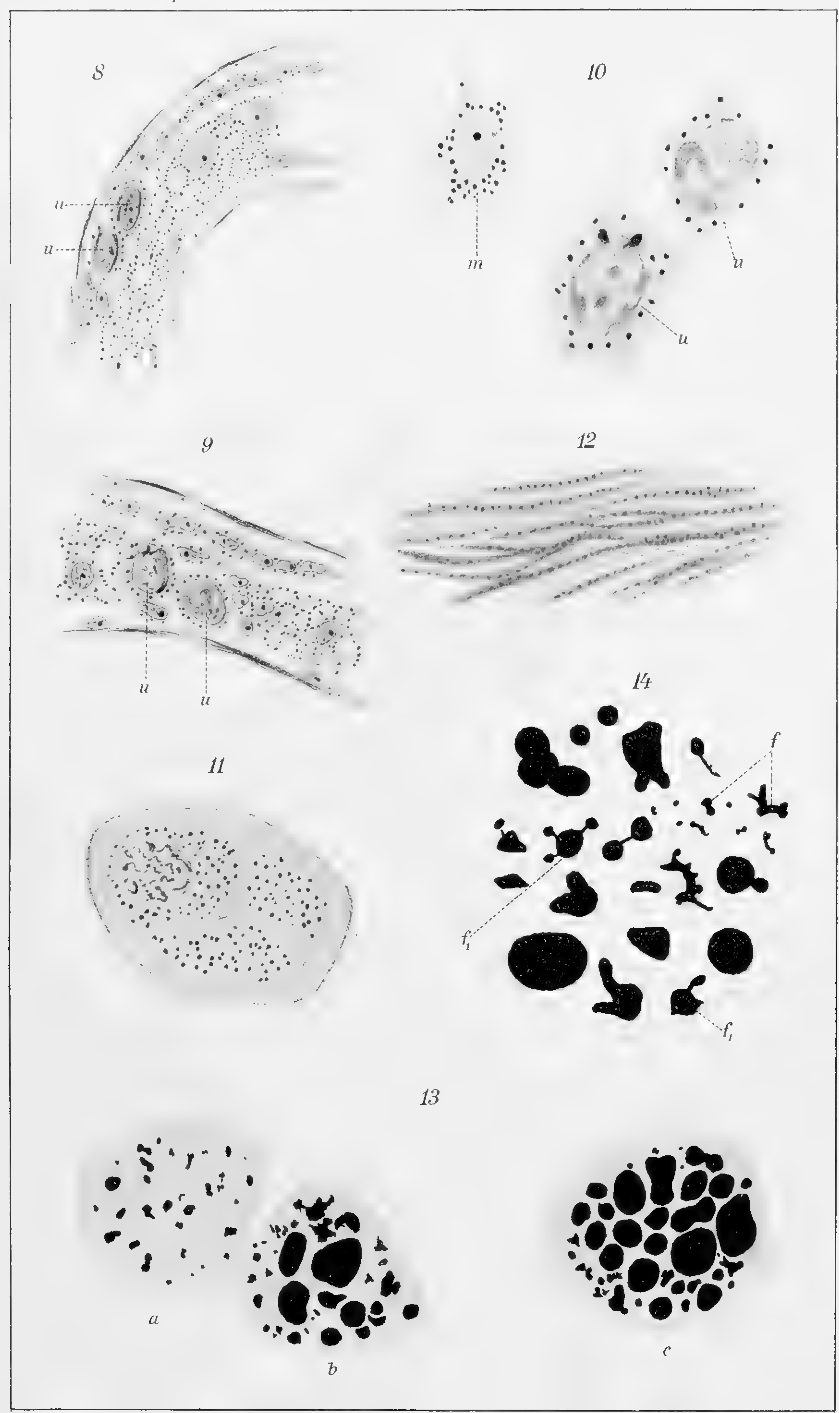






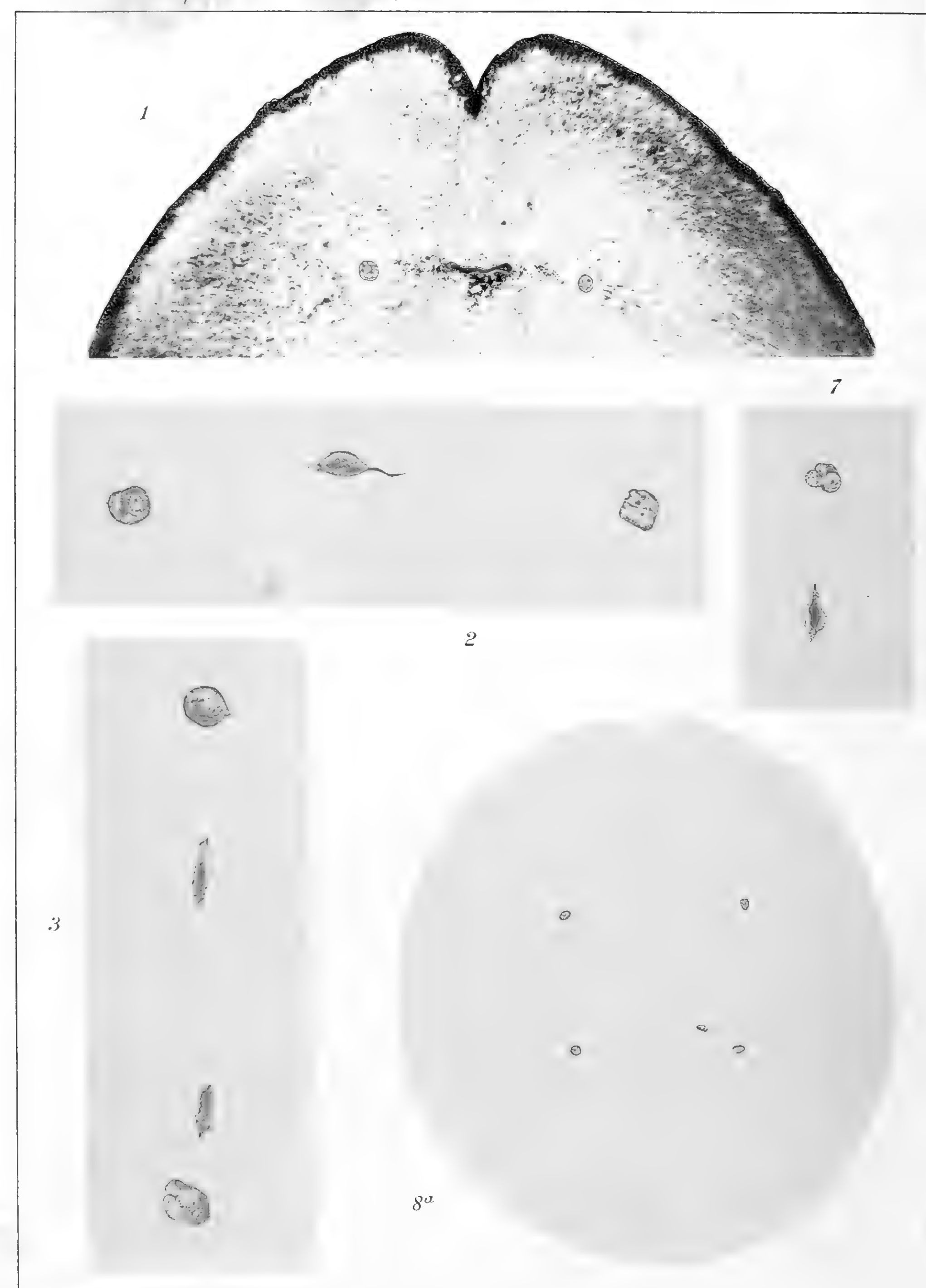

1
2
3
P_2
P_3
P
6
e
u
m
4
5
en
eK
m
u
u_2
u_1
7
en
u



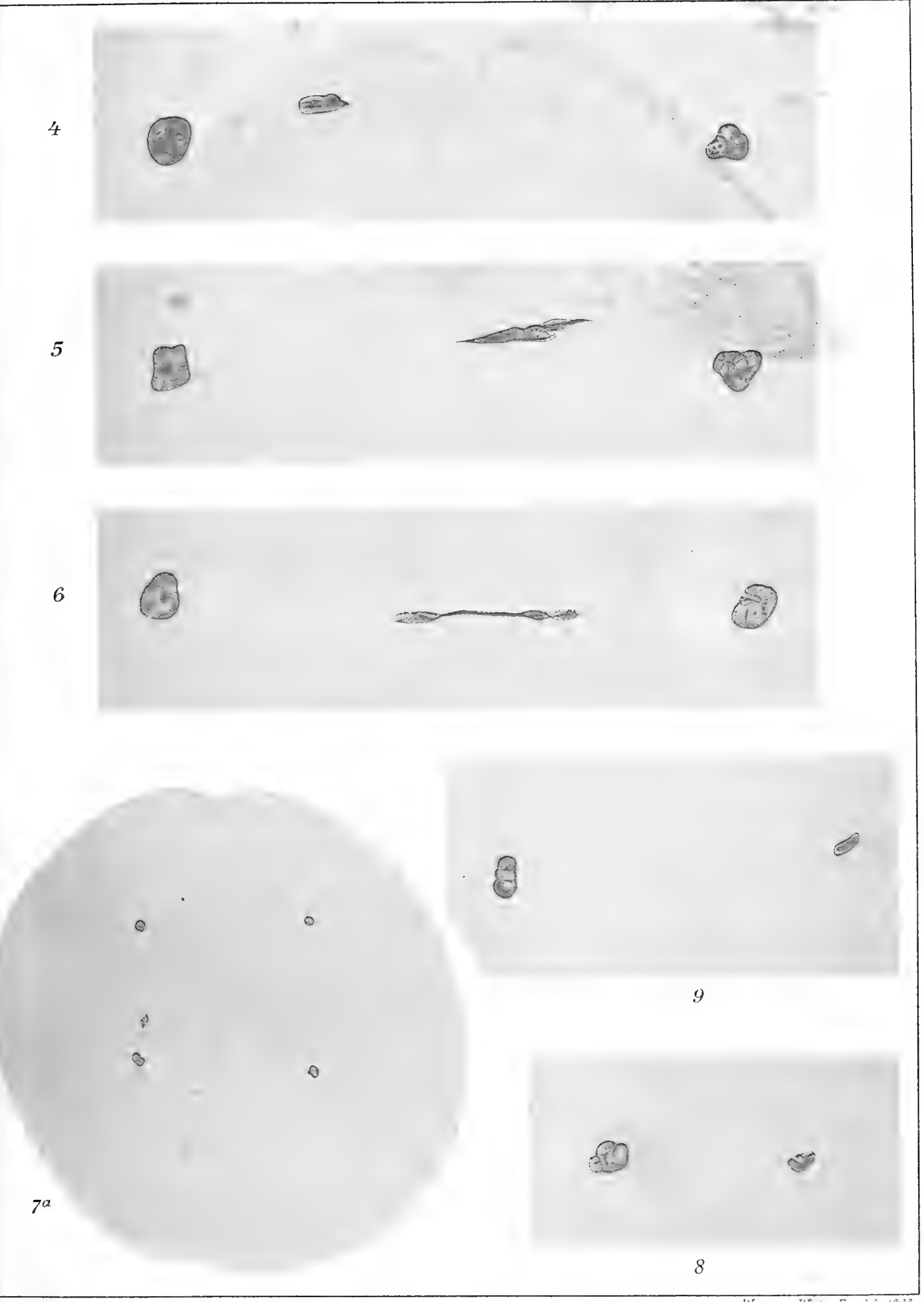

8
u
u
10
m
u
u
9
u
u
12
14
f
f_1
f_1
11
13
a
b
c







Paul J. Hertwig fec.



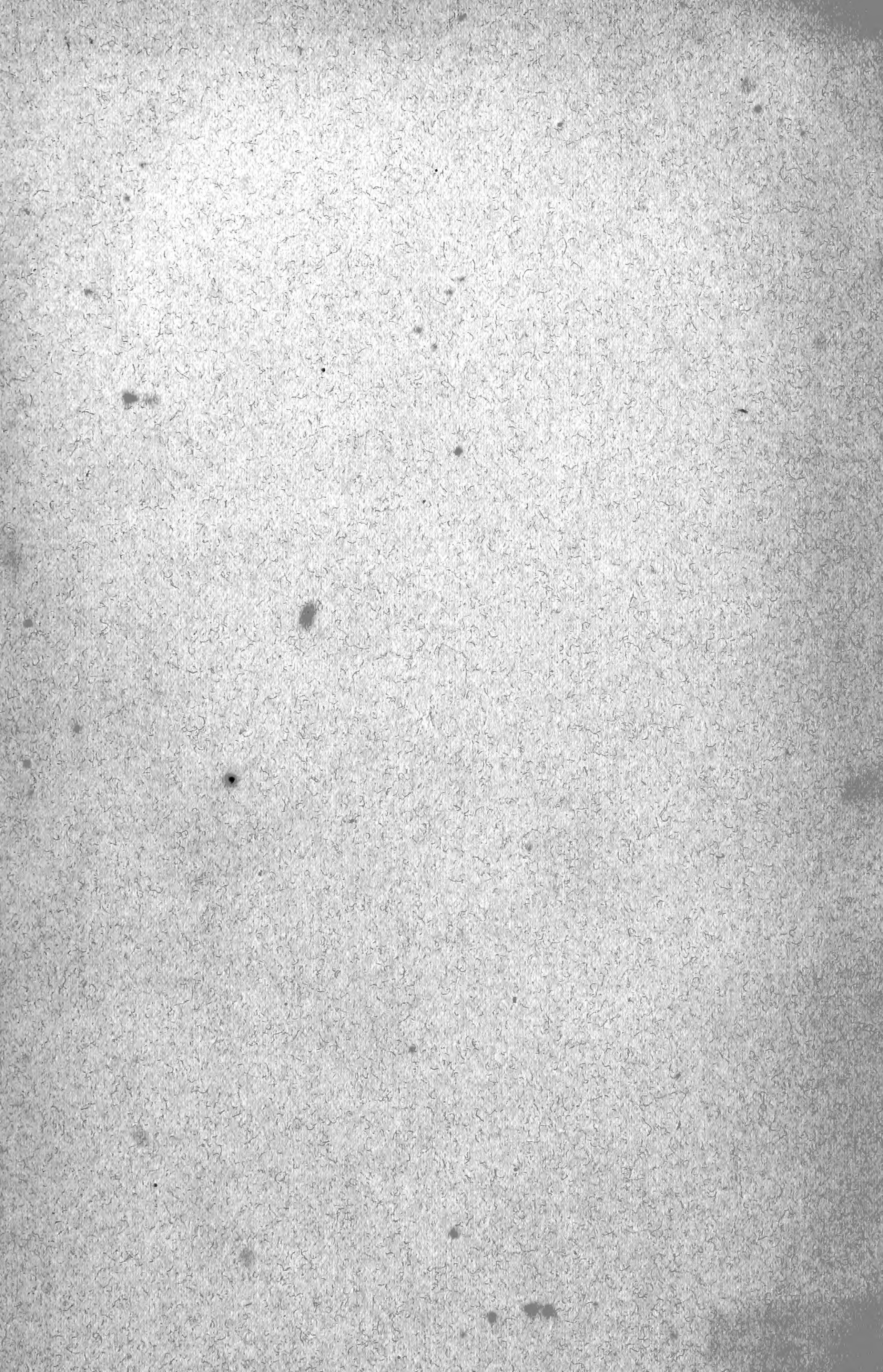
Werner u. Winter, Frankfurt a. M.












MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02650

